CAPITOLUL 1

HEMATOPOIEZA SI CELULELE SANGUINE

HEMATOPOIEZA INTRAUTERINA SI MODIFICARILE POSTNATALE

Procesul de formare a celulelor sanguine este denumit *hematopoieza*.

In viata embrionara se disting 3 etape ale hematopoiezei desfasurate in 3 regiuni diferite. Productia celulelor sanguine incepe in sacul vitelin, in zilele 14-19 ale vietii intrauterine, unde masele de celule mezenchimale se grupeaza, formand insulele sanguine. In aceasta etapa precoce a hematopoiezei, denumita si mezoblastica, aproape toate celulele formate sunt eritrocite nucleate, caracteristice pentru faza embrionara precoce.

Incepand din saptamana a 6-a, productia de eritrocite a sacului vitelin se reduce la acest nivel. Se va initia a 2-a etapa a hematopoiezei, la nivelul ficatului, unde se vor acumula celule rotunde, bazofile, identice cu eritroblasii din organele hematopoietice ale adultului. Aceste celule sunt denumite eritroblasti definitivi, pentru a fi deosebite de eritorblastii primitivi din sacul vitelin; ele vor da nastere la eritrocite anucleate. In luna a 2-a, in sinusoidele ficatului apar, de asemenea, granulocitele si megacariocitele. In saptamana a 12-a, splina fetala va deveni, alaturi de ficat, un sediu al hematopoiezei.

In stadiile initiale ale dezvoltarii, scheletul embrionului este alcatuit numai din cartilaj hialin. Faza mieloida a hematopoiezei incepe odata cu aparitia centrilor de osificare in cartilajele oaselor lungi, in lunile 4-5 ale vietii intrauterine. Vasele sanguine care penetreaza in cavitatile cartilajului, rezultate ca urmare a degenerarii condrocitelor, vor aduce cu ele celule mezenchimale. O parte din aceste celule se vor diferentia in celule implicate in formarea osului, iar restul in celule reticulare primitive care vor forma stroma viitoarei maduve osoase. Celulele reticulare, la randul lor vor da nastere celulelor adipoase si altor elemente ale tesutului conjuctiv.

Hematopoieza din ficat si splina se reduce progresiv pe masura ce maduva osoasa se constituie si preia functia de formare a celulelor sanguine.

Caracteristicile eritropoiezei intrauterine sunt prezentate schematic in tabelul 1-1.

Tabelul 1-1

Caracteristicile eritropoiezei intrauterine

Sediul eritropoiezei	**Tipul predominant al eritropoiezei**	**Celula finala**	**Tipurile principale de hemoglobina**
Sacul vitelin	Megaloblastic	Nucleata	Gower I (ζ_2 ε_2) Gower II (α_2 ε_2) Portland (ζ_2 γ_2)

Ficatul fetal	Normoblastic	Macrocit anucleat	Hemoglobina fetala (Hb. F. α_2 γ_2)
Maduva osoasa fetala	Normoblastic	Macrocit anucleat	HbF si HbA (α_2 β_2)

Dupa nastere, maduva osoasa reprezinta organul principal al hematopoiezei la indivizii sanatosi. In ficat si splina ramane un numar mic de celule suse hematopoietice, care, in anumite conditii, pot deveni active.

In primii 4 ani de viata, aproape toate cavitatile medulare contin maduva rosie hematogena, cu foarte putine celule grasoase. Treptat, un numar din ce in ce mai mare de celule grasoase va ocupa cavitatile medulare. In jurul varstei de 25 de ani, singurele sedii cu hematopoieza activa vor fi la nivelul oaselor craniului, coastelor, sternului, scapulelor, claviculelor, vertebrelor, femurului si humerusului. Toate cavitatile medulare restante vor contine maduva galbena, grasoasa. Chiar si in zonele cu hematopoieza activa, celulele grasoase ocupa o jumatate din volumul normal al maduvei.

Intr-o serie de boli, cum ar fi: anemiile hemolitice acute, anemiile megaloblastice si unele leucemii, la nivelul maduvei osoase se pot produce urmatoarele modificari:

a. inlocuirea partiala sau totala a tesutului grasos prin celule hematopoietice, la nivelul cavitatilor medulare implicate in mod normal in hematopoieza;
b. extinderea hematopoiezei in celelalte cavitati medulare, care nu sunt sedii active pentru acest proces (spre exemplu, cavitatile medulare ale oaselor lungi);
c. aparitia focarelor de hematopoieza extramedulara in ficat si splina.

Spre deosebire de bolile mentionate mai sus, in aplazia medulara, maduva rosie hematopoietica este dislocata in proportie de 25-50% de tesutul grasos.

Hematopoieza la adult

DATE GENERALE

Sistemul hematopoetic al adultului realizeaza un echilibru perfect intre rata de pierdere a celulelor sanguine mature (eritrocite, granulocite, monocite, limfatice, trombocite) si ritmul de eliberare in circulatie a celulelor nou formate.

Pierderea celulelor sanguine are loc fie datorita procesului de "imbatranire" fiziologica (hematiile), fie in cursul indeplinirii functiei lor (granulocitele, trombocitele). Asfel, trombocitul poate fi distrus intravascular in primele minute de aparitie in sangele periferic, datorita fenomenului de adeziune la celula endoteliala lezata, iar granulocitele si monocitele se pot distruge in cateva ore in procesele de fagocitoza a bacteriilor.

Hematopoieza adultului, preponderent medulara, cu un potential de rezerva extramedular (ficat, splina), genereaza 2,5 bilioane hematii/kilocorp, 2,5 bilioane trombocite/kilocorp si 1 bilion granulocite/kilocorp.

Astazi, maduva osoasa hematogena poate fi usor examinata, dar ramane totusi un organ dificil de studiat datorita structurii si functiilor sale complexe.

Datele istorice privind examinarea maduvei osoase sunt prezentate in tabelul 1-2.

T*abelul 1-2*

Date istorice privind examinarea maduvei osoase

1868 - Neuman si Bizzozero examineaza independent celulele sanguine din materialul recoltat din coaste

1869 - Claude Bernard prezinta datele lui Neuman la Academia de Stiinte din Paris.

1876 - Mosler efectueaza prima biopsie la un pacient cu leucemie.

1929 - Arinkin foloseste acul pentru punctia sternala

La adultul sanatos, greutate tesutului hematopoietic reprezinta 3,4-5,9% din greutatea corporala si este echivalenta cu greutatea tesutului hepatic.

ANATOMIA MADUVEI OSOASE

Cavitatea medulara a osului este partial compartimentata de catre trabeculele osoase si contine un tesut hematopoietic de aspect gelatinos sau semifluid.

Sistemul vascular al maduvei osoase este adaptat functional pentru producerea de celule sanguine. In centrul cavitatii medulare se gaseste artera nutritiva ale carei ramuri se termina in patul capilar din interiorul osului, si mai putin la periferia spatiului medular. Unele capilare sau venule post-capilare reintra in cavitatea medulara si, printr-un fenomen de coalescenta, formeaza sinusuri venoase largi, in care fluxul sanguin este orientat spre zona centrala a maduvei.

Aceste sinusuri comunica intre ele si dreneaza in vena centrala, care urmeaza acelasi traiect ca si artera. Spatiul dintre sinusoide este populat de celule hematopopietice active si de tesut grasos.

Sinusurile venoase medulare, spre deosebire de cele splenice, sunt alcatuite numai dintr-un singur strat de celule endoteliale, membrana bazala si adventicea fiind discontinue.

Celulele hematopoietice se gasesc in ochiurile unei retele formate de celulele reticulare. Hematopoieza are loc in parenchimul maduvei, delimitat de sinusoide.

Mecanismul eliberarii celulelor sanguine din maduva este insuficient cunoscut; celulele parasesc parenchimul medular si patrund in sinusurile venoase, prin fenestratiile celulelor endoteliale, dar modul de aparitie a acestor fenestratii nu este clar. Un factor important care regleaza pasajul prin

sinusoide este deformabilitatea celulara. Astfel, reticulocitele, eritrocitele mature si granulocitele sunt mult mai deformabile decat precursorii lor si pot strabate fenestratiile sinusurilor.

ONTOGENIA CEULELOR HEMATOPOIETICE

Hematopoieza implica doua procese:

1. Dezvoltarea progresiva a caracterelor structurale si functionale specifice unei anumite serii celulare (diferentiere si maturatie).
2. Proliferarea celulara. In figura 1.1 hematopoieza este reprezentata schematic.

Celulele suse (stem) si celule progenitoare nu pot fi recunoscute morfologic pe frotiurile de maduva, dar pot fi studiate prin teste functionale. Celula hematopoietica primitiva, denumita si celula stem pluripotenta, va da nastere la doua tipuri de celule: celula stem meiloida multipotenta si celula stem limfoida. Celulele stem au capacitatea de a-si mentine constant numarul prin autoreinnoire ("ciclul de multiplicare"), alaturi de posibilitatea maturarii in alte tipuri celulare ("ciclul de maturare"). Celulele stem limfoide vor genera celulele progenitoare, care se vor matura in toate tipurile de limfocite: B, T si nule. Celulele stem mieloide multipotente se diferentiaza in variate tipuri de celule progenitoare mieloide, care vor urma linia de maturare in eritrocite neutrofile, eozinofile, bazofile si masrocite, monocite si trombocite. Spre deosebire de celulele stem (pluri. Si multipotente), celulele progenitoare limfoide si mieloide au o capacitate limitata de autoreinnoire.

Celulele pregenitoare unipotente, initiate in producerea unui singur tip de celula, sunt denumite celule formatoare de colonii (C.F.U.), deoarece in mediile de cultura, celulele progenitoare au capacitatea de a forma colonii micim in prezenta factorilor de crestere hematopoietici, specifici seriei (exemplu: eritropoietine). Aceste celule unipotente se vor matura in celule recunoscute morfologic pe frotiuri, care sunt denumite celule cap de serie: proeritroblasti, mieloblasti, monoblasti si megacarioblasti.

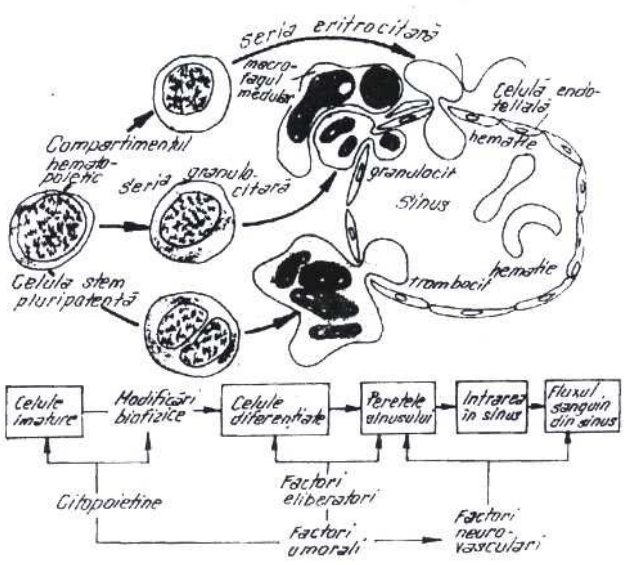


Fig. 1.1 – Structura maduvei osoase; insulele de hematopieza, maturarea si migrarea celulelor mature in sinusul medular.

Celulele hematopoietice derivate din celulelestem mieloide pot fi recunoscute morfologic.

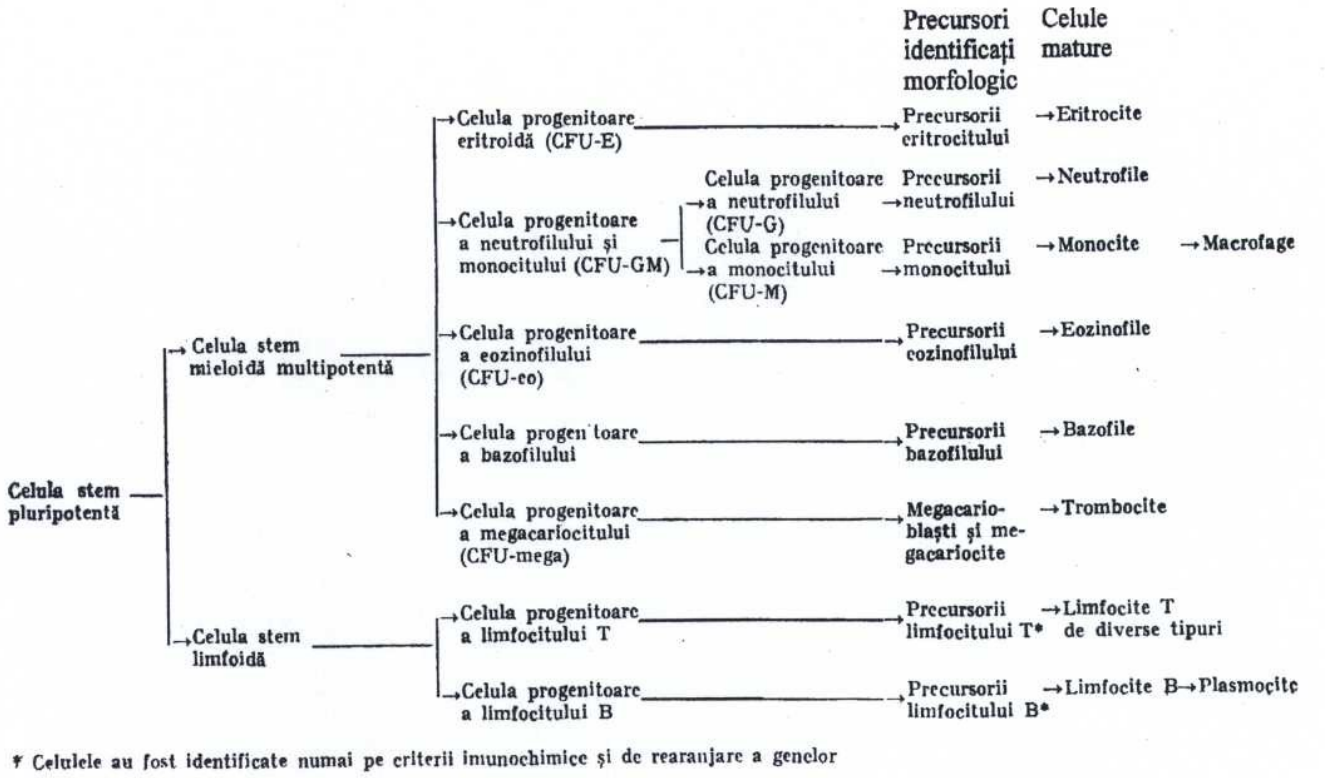
Toate liniile mieloide urmeaza etapele de proliferare, diferentiere si maturare cu formarea in final a unor celule mature functionale, incapabile de diviziune.

Pentru fiecare serie mieloida, cu exceptia cele megacariocitare, au fost identificati, pe baza unor criterii morfologice si citochimice, precusori capabili de proliferare si maturare.

Pentru fiecare serie mieloida, cu exceptia celei megacariocitare, au fost identificati, pe baza unor criterii morfologice si citochimice, precursori capabili de proliferare si maturare. Seria megacariocitara este singura linie mieloida care isi pierde modelul de diviziune directa, dar isi pastreaza capacitatea de endomitoza (se divide numai AND-ul, iar citoplasma creste in dimensiuni).

In concluzie, hematopoieza poate fi descrisa dupa modelul unei piramide: varful este reprezentat de celula stem pluripotenta, iar baza, de celulele mature, identificate prin hemograma.

Eritropoieza



* Celulele au fost identificate numai pe criterii imunochimice și de rearanjare a genelor

Proeritroblastul este o celula mare, cu o citoplasma redusa cantitativ, dar intens bazofila (datorita prezentei unor numerosi ribozomi). Nucleul, de dimensiuni mari, contine I cromatina fin dispersata si nucleoli vizibili.

Fig. 1.2 – Hematopoieza normala.

In etape succesive, proeritroblastul se diferentiaza in eritroblast bazofil, eritroblast policromatofil, eritroblast oxifil, ajungand in final in stadiul de reticulocit, care va parasi maduva osoasa si va trece in sangele periferic.

In cursul procesului de maturare, aceste celule nucleate vor suferi urmatoarele transformari:

a. reducerea progresiva a dimensiunilor nucleului si celulei;
b. cresterea progresiva a cantitatii de cromatina nucleara condensata;
c. cresterea progresiva a raportului dintre volumul citoplasmatic si volumul nuclear;
d. cresterea progresiva a continutului de hemoglobina (cu un aspect roz pe frotiuri) in paralel cu scaderea ARN-uiui ribozomal (colorat in albastru), realizand, in ansamblu, un aspect policromatofil al celulei.

In final, eritroblastul oxifil sufera un proces de expulzie a nucleului si se transforma in reticulocit medular. Reticulocitele formate in maduva intra in torentul circulator si raman in acest stadiu 1 – 2 zile, dupa care devin eritrocite mature.

Pe frotiurile de maduva si sange periferic, colorate May-Grünwald-Giemsa, reticulocitele sunt descrise sub forma unor celule rotunde, discret policromatofile (aspect bleu-cenusiu), cu un diametru mai mare decat hematiile adulte. Cand se foloseste coloratia supravitala cu albastru-crezil-briliant se observa precipitate bazofile, de aspect granular sau filamentar, formate din ARN ribozomal. Reticulocitele mai tinere prezinta precipitate de ARN sub forma unei retele bazofile, care a sugerat denumirea acestor celule. Hematiile adulte sunt lipsite de ribozomi.

Pe baza caracterelor morfologice, precursorii eritrocitari (eritroblastii) din maduva osoasa normala sunt denumiti normoblasti, iar procesul de formare a hematiilor adulte, eritropoieza normoblastica. Elementul major al eritropoiezei normoblastice este prezenta unei cantitati moderate de cromatina nucleara condensata in eritroblasti policromatofili.

Chiar si la persoanele sanatoase, un procent redus de eritroblasti (1-2%) parcurg anormal etapele de proliferare si maturare; ei vor fi recunoscuti si fagocitati de macrofagele medulare. Aceasta pierdere de eritrocite potentiale, ca urmare a distructiei intramedulare a precursorilor, este recunoscuta sub numele de eritropoieza ineficienta. Acest tip de eritropoieza devine important in transformarea megaloblastica a maduvei, ca urmare a eritropoiezei ineficiente se formeaza un pigment biliar timpuriu *(early peak pigment),* care poate fi identificat in stercobilinogenul fecal.

Granulocitopoieza neutrofilelor

Aparent, mieloblastii sunt morfologic asemanatori cu proeritoblastii, dar citoplasma lor este mai putin bazofila. Pana la aparitia granulocitului neutrofil circulant, mieloblastul parcurge succesiv stadiile de promielocit, mielocit neutrofil, metamielocit neutrofil si granulocit neutrofil medular. Transformarile produse in cursul acestui ciclu de maturare sunt urmatoarele:

1. reducerea progresiva a bazofiliei citoplasmei paralel cu marirea cantitatii de cromatina nucleara condensata, dupa stadiul de promielocit;
2. aparitia granulatiilor citoplasmatice azurofile (granulatii primare) in stadiul de promielocit, care raman vizibile in mielocite, insa dispar, in etapele ultenoare;
3. aparitia granulatiilor neutrofile specifice in stadiile de mielocit si metamielocit;
4. modificarea nucleului in stadiul de metamielocit (aspect in "U" sau "C" al nucleului);

5. segmentarea progresiva a nucleului in forma de "U" in stadiul de granulocit, cu formarea a 2 – 5 lobuli.

Megacariocitopoieza

In cursul formarii trombocitelor se realizeaza un model particular de mitoza (endomitoza), manifestat printr-o replicare a ADN-uiui, fara diviziunea nucleului si a celulei. Vor rezulta celule gigante uninucleate, cu 8-64 cariotipuri. Exista o corelatie stransa intre numarul de cariotipuri si gradul de lobulare a megacariocitului.

In cursul etapelor de proliferare si diferentiere ale seriei megacariocitare sunt recunoscute urmatoarele: tipuri celulare:

1. megacarioblastul – celula mare (15 μ), cu nucleu intens colorat, discret lobulat, cu citoplasma redusa si bazofilie marcata;
2. megacariocitul bazofil – celula mare (peste 30 μ). cu citoplasma bogata, relativ omogena, de culoare albastra Nucleul este mare si polilobat;
3. megacariocitul granular trombocitogen de aceeasi talie (30 μ), cu nucleu polilobat si citoplasma de culoare roz. In citoplasma se observa multiple granulatii, ce corespund viitoarelor trombocite.

Megacariocitele trombocitogene sunt prezente in vecinatatea sinusoidelor medulare; la acest nivel, trombocitele se desprind progresiv din citoplasma megacariocitelor, printr-un proces de descuamare si trec in circulatie prin fenestratiile sinusurilor (fiecare megacariocit va genera 4000–6000 trombocite). La sfarsitul ciclului de viata, nucleul restant al megacariocitului va fi fagocitat de macrofage.

Monocitopoieza

Celulele sistemului monocit-macrofag sunt reprezentate pe linia maturarii de: monoblast, promocit, monocitul medular, monocitul din sangele periferic si macrofagul tisular.

Macrofagul tisular este celula functionala a acestei serii. Anumite macrofage, spre exemplu cele pulmonare, au capacitatea de a se divide local, asigurand astfel un numar adecvat de celule, pentru procesele de fagocitoza.

Limfocitopoieza

Celula stem limfoida din maduva osoasa genereaza celule progenitoare ale limfocitelor B, care vor suferi un proces de maturatie sub influenta micromediului din acest tesut. Vor rezulta limfocitele B, care vor trece in torentul circular si vor ajunge la nivelul organelor limfoide periferice, in zonele B.

Celulele progenitoare ale limfocitelor T, derivate tot din celula stem limfoida migreza in cursul procesului de limfopoieza din maduva osoasa in timus. La acest nivel, are loc maturarea precursorilor in limfocite T competente imunologic. . De asemenea, in timus se va face inventarul imunologic, in sensul ca limfocitele T care reactioneaza impotriva self-ului (antigenele proprii) vor fi inlaturate. In final, limfocitele T parasesc timusul, ajung in sange si, de aici, in organele limfoide, periferice, unde vor popula zonele T.

. Termenii folositi in denumirea celulelor corespunzatoare stadiilor de diferentiere a limfocitelor B si T sunt urmatorii:

- celula pre-B tanara… celula pre-B… celula B imatura… celula B matura…
- limfoblast timic (protimocit)… timocit tanar (stadiul I)… timocit obisnuit (stadiul II)… timocit matur (stadiul III)… celula T matura.

Toate aceste celule prezinta caractere morfologice, fie de limfoblast, fie de limfocit. Identificarea diferitilor precursori limfocitari nu se bazeaza pe aspectul morfologic, ci pe urmatoarele criterii imunochimice:

- reactivitatea fata de anumiti anticorpi monoclonali;
- rearanjarea genelor pentru imunologlobuline;
- prezenta imunoglobulinelor de suprafata;
- activitatea terminal.deoxiuridil-transferazei (TsT);
- rearanjarea generlor pentru receptorul celulei T (TCR).

Factorii stimulatori ai hematopoiezei

Factorii stimulatori ai hematopoiezei, denumiti si citokine, regleaza proliferarea, diferentierea si maturatia celulelor stem pluripotente, unipotente, durata de viata si functia celulelor mature hematopoietice.

In aceasta gama larga se inscriu:

- factorii stimulatori de colonii, cu denumirea internationala (C.F.S.);
- interleukinele: termenul este derivat din conceptul ca sunt produse ale leucocitelor si actioneaza tot pe leucocite (interactiune leucocitara).

Factorii stimulatori ai hematopoiezei

Factor	**Sinonim international**	**Cromozom**	**Activitati biologice**	**Progenitori celule mature**
S.F.	Factorul Steel	10	Activitate sinergica cu IL-3: GM-CSF, Epo asupra celulelor stem multipotente	
IL-3	Multi-CSF	5q23-31	Celule stem multipotente: eozinofil, bazofil	
G-CFS	-	17q11-21	Celule stem mieloide neutrofile	
M-CFS	-	1p13-21	Celule stem mieloide monocite	

Eritro-poetine	-	7q11-2	Celule pregenitoare eritroide	
IL-5	E.D.T.	5q31	Celule progenitoare pentru eozinofile	
IL-6	$IFN_{\alpha 2}$ 26kd-proteina	7p15	Lucreaza sinergic cu IL-3 si factorul Steel pe blasti	
IL-1α	-	2q13	Introduce productia de factori stimulatori ai hematopoiezei	
IL-1β	-	2q13	-	
IL-4	BSF-1	5q23, 2-31;2	Lucreaza sinergistic cu eritropoietina G-CFS: M-CFS si progenitori	
IL-8	-	-	-	Actiune pe neutrofil (chematoxie)
IL-9	-	-	Colonii formatoare de serie eritroida	-
IL-10	-	-	-	Inhiba sinteza Interferon - γ
IL-11	-	-	Sinergetic cu IL-3 cu factorul Steel pe celula multipotenta	
IL-12	-	-	Suport pentru celule stem (cu IL-3 si factor Steel)	Induce sinteza Interferon - γ
IL-13	-	2q23-31		Creste monocitele celule B-CD23, sinteza Ig si expresia clasa II antigen

Mpl	Trombopoetin	-	Are efecte pluripotentiale la nivelul celulei stem mieloide si a precursorilor megacariocitari	

*Mpl – Ligand pentru factor de stimulare al trombocitului, capabil de a se lega de receptorul trombopoetinului. Numele provine de la "murine mieloproliferative leukemia".

Factorii stimulatori ai hematopoiezei au un domeniu *extracelular,* caracterizat prin una sau doua regiuni care contin 4 molecule de cisteina si complexul triptofanserina X triptofan-serina. Particularitatile care trebuie mentionate sunt urmatoarele:

- IL-6 contine in domeniul extracelular receptor pentru imunoglobina,
- G-CSF contine in domeniul extracelular trei regiuni pentru fibronectina, si un domeniu *intracelular,* care este bogat in serina si prolina.

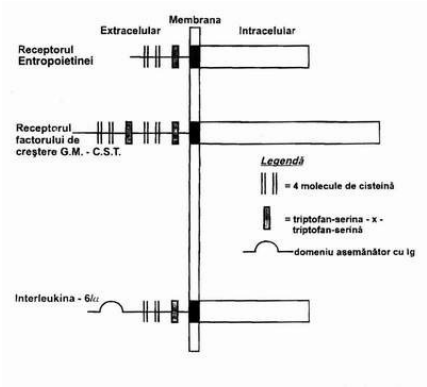


Fig. 1.3 – Diagrama unor factori stimulatori ai hematopoiezei.

Indicatii terapeutice

Cheia sustinerii hematopoiezei este celula pluripotenta. Prezenta acestor celule a fost demonstrata pentru prima data la soareci, prin experimentul lui Jacobsen si colab. (1949). Ei au aratat ca soarecii pot fi protejati de efectele unei iradieri totale (refacerea hemaatopoiezei), daca splina acestora este exclusa din campul de iradiere. Acest efect protector este sigur datorat unei celule, care provine din splina neiradiata. Caracteristica esentiala a celulelor stem imature este capacitatea lor de a repopula atat linia hematopoietica, cat si linia imuna. S-a dovedit astfel importanta functionala a celulelor stem.

Ulterior, Till si McCulloch (1961) au aratat ca in splinele soarecilor iradiati letal, dupa injectarea cu celule stem din maduva se formeaza celule hematopoietice functionale. Aceasta metoda a devenit o metoda cantitativa de apreciere a celulelor stem, international denumite CFU-S. Aceste colonii splenice (CFU-S) contin precursori ai eritroblastilor, ai seriei fagocitare se megacariocitare.

Numarul de celule stem este *extrem de mic*. Se apreciaza la 1 – 2,5 la 100.000 din celulele nucleate din maduva osoasa. Celule stem pot repopula atat sistemul mieloid cat si sistemul limfoid.

E.M. Kay (1965) a lansat ipoteza ca celule stem multipotente astazi marcate prin CD^{+}_{34} contribuie prin formarea de clone, de progenituri, la mentinerea hematopoiezei in cursul vietii umane.

Facotrul de crestere al celulei stem multipotente este numir factorul Steel – CSF. El joaca rol in cresterea si dezvoltarea celulelor hematpoietice stem multipotente, a spermatocitelor, melanocitelor si a mastocitelor. Acest factor stimulator al celulei stem pluripotente contine 248 de amino-acizi, este codificat de o gena aflata pe cromozomul 10 la soarecii Steel. El reprezinta un ligand. Receptorul sau este numit *C-Kit*, este codificat pe cromozomul 5 din celula stem la soarecii numiti "White spotting" (W). El este utilizat pentru mobilizarea celulelor hematopoietice progenitoare din sangele periferic ($PBPC_8$). Factorul stimulator al celulei multipotente (CFS) lucreaza in armonie cu intereukina-3, interleukina-6, cu factorul de crestere al seriei granulocitare (G-CFS) si interleukina-11 la nivelul celului γ. Activitatea celulei stem CD 34+ (acestor factori), necesita ca celulele stem sa fie intr-o perioada activa a ciclului celular.

Factori stimulatori: G-CSF, GM-CSF, ai seriei granulocitare si monocitare au si ei o indicatie bine definita in tratamentul anemiilor aplastice, in aplazia medulara post-tratament sau in neutropeniile congenitale si/sau autoimune.

Reglarea hematopoiezei

Se presupune ca reglarea activitatii celulelor stem hematopoietice depinde de contactul intim cu una sau mai multe tipuri de celule stromale si de citokine din maduva osoasa. Proliferarea si maturarea celulelor pregenitoare intiate sunt influentate de o categorie speciala de factori de crestere, secretati de ceulel stromale (macrofage, celule encoteliale si fibroblasti); interleukina 3 (IL-3), factorul stimulator al coloniilor de macrofage si granulocite (GM-CSF), factorul stimulator al coloniilor de granulocite (G-CSF) si factorul stimulator al coloniilor de macrofage (M-CSF).

Rata eritopoiezei este controlata de eritropoetina, un hormon secretat de rinichi. Productia de eritropoetina este stimulata de scaderea aportului de oxigen la nivelul tesutului renal.

Acest hormon creste productia de hematii prin stimularea ratei de conversie a CFU-E in proeritroblasti. De asemenea, reduce perioada de timp necesara parcurgerii etapelor de diferentiere. De la proeritroblast la reticulocit medular si favorizeaza eliberarea reticulocitului in circulatie.

Reglarea proceselor de formare a celorlalte celule sanguine este inca insuficient cunoscuta.

Celulele sanguine

MORFOLOGIE

Pe frotiurile de sange periferic, colorate Giemsa, eritrocitele normale au aspectul unmor celule anucleate, de culoare roz si cu un diametru de 6,7-7,7 μ (in medie 7,2 μ).

Pentru descrierea corecta a morfologiei celulelor sanguine, frotiul trebuie examinat pe margini sau in zonele in care este intins foarte subtire si fiecare element este bine etalat. In aceste zone ale frotiului, hematiile au o forma binconcava si prezinta o zona centrala, palida, al carei diametru reprezinta 1/3 din diametrul celulei.

Pe langa eritrocite, pe frotiu se mai observa trombocite si variate tipuri de leucocite. In medie, raportul intre eritrocite, trombocite si leucocite este de 700:40:1.

Trombocitele sunt celule mici, anucleate, cu un diametru de 2-3 µ. Se coloreaza in albastru-deschis si contin un numar de granulatii azurofile mici, care sunt de obicei concentrate in zona centrala.

Morfologia normala a leucocitelor este prezentata in tabelul 1-4. Neutrofilul, eozinofilul si bazofilul sunt celule polimorfonucleare, cu una sau mai multe mase nucleare unite in serie prin punti de cromatina.

Morfologia normala a leucocitelor pe frotiurile de sange periferic

Colorate May-Grünwald-Giemsa

Citoplasma					
Tipul celulei	**Talie (µ)**	**Culoare**	**Raportul intre volumul citoplasmei si volumul nucleului**	**Granulatii**	**Nucleu**
Granulocit neutrofil	9-15	Roz-pal	Crescut	Numeroase, foarte fine, discret purpurii	Obisnuit 2-5 segmente
Granulocit eozinofil	12-17	Albastru-pal	Crescut	Numeroase, mari si rotunde, rosii-portocalii	Obisnuit 2 segmente
Granulocit bazofil	10-14		Crescut	Putin numeroase, mari si rotunde, negre-purpurii	Obisnuit 2 segmente
Monocit	15-30	Albastru-cenusiu; vacuole citoplasmatice	Moderat crescut-/crescut	In numar variabil, fine, rosii-purpurii	Forme variate (rotund, in forma de C sau U, lobulat)
Limfocit	7-12 (limfocit mic); 12-16 limfocit	Albastru-pal	Scazut/foarte scazut	Putine, fine, rosii purpurii	Rotund cu gramezi de cromatina condensata

	mare)				

In mod normal, proportia neutrofilelor cu 5 sau mai multe segmente nucleare nu depaseste 3%.

Cele mai multe limfocite din sangele periferic (90%) au dimensiuni mici.

NUMAR SI DURATA DE VIATA

Valorile normale si durata de viata a celulelor sanguine sunt precizate in tabelul 1-5.

Tabelul 1-5

Valorile normale si durata de viata a celulelor

Tipul celulei	**Valorile normale**	**Durata de viata in sangele periferic**
Eritrocite	Barbati: 4,4-5,8x10^{12}/1 Femei: 4,1-5,2x10^{12}/1	110-120 zile
Leucocite	4,0-11,0x10^{9}/1	
Granulocite Neutrofile	1,5-7,5x10^{9}/1	$t_{1/2}$ aproximativ 7 h
Granulocite eozinofile	0,02-0,60x10^{9}/1	$t_{1/2}$ aproximativ 6 h
Granulocite bazofile	0,01-0,15x10^{9}/1	
Monocite	0,2-0,8x10^{9}/1	$t_{1/2}$ aproximativ 70 h
Limfocite	1,2-3,5x10^{9}/1	
Trombocite	160-450x10^{9}/1	9-12 zile

Durata de viata a eritrocitelor in sangele periferic este de 110-120 zile, dupa care se trensforma in sferocite si sunt fagocitate de catre celulele sistemului monocit-macrofag din maduva osoasa, splina, ficat si alte organe.

Granulocitele neutrofile sunt distribuite intre rezervorul de celule circulante si zona de marginatie (alcatuita din celule strans atasate de endoteliul venulelor mici), intr-un echilibru dinamic. Pe frotiu sunt studiate numai elementele circulante.

Limfocitele sufera o recirculatie continua intre sange si sistemul limfatic. Astfel, celulele parasesc sangele prin fenestratiile endoteliale ale venulelor postcapilare din ganglionii limfatici, migreaza in limfaticele ganglionare aferente si reintra in sange prin canalul toracic. Majoritatea limfocitelor umane au o durata mare de viata, in medie 4-5 ani (maximum 20 ani si minimum 3 zile).

FUNCTII PRINCIPALE

Functiile principale ale celulelor sanguine sunt sintetizate in tabelul 1-6.

Functiile principale ale celulelor sanguine

Tipul de celula	**Functiile principale**
Eritrocite	Transportul de O_2 de la plamani la tesuturi, transportul de CO_2 de la tesuturi la plamani
Granulocite Neurofile	Chemotaxie, fagocitoza, distrugerea bacteriilor fagocitate

Tipul de celula	**Functiile principale**
Eozinofile	Functii identice cu ale neutrofilelor; celule efectoare in distrugerea mediata prin anticorpi a metazoarelor, regleaza reactiile de hipersensibilitate imediata (inactiveaza histamina si substanta cu actiune lenta a anafilaxiei – SRS-A eliberate de bazofile si mastocite)
Bazofilul	Intervine in reactia de hipersensibilitate imediata (bazofilele purtatoare de receptori IgE reactioneaza cu antigelul specific si elibereaza histamina si substanta cu actiune lenta a anafilaxiei (SRS-A); moduleaza raspunsurile inflamatorii prin eliberarea de heparina si proteaze
Monocitele	Chemataxie, fagocitoza, distrugerea unor microorganisme, devin active cand se transforma in macrofage

Trombocitele	Adera la zona subendoteliala, participand in procesul de hemostaza
Limfocitele	Implicate in raspunsurile imune

LIMOFICITELE

Valorile procentuale ale tipurilor de limfocite din sangele periferic sunt urmatoarele:

- 65 – 80% celule T
- 10 – 30% celule B
- 2 – 10% celule NK ("Natural Killer")

Atat limfocitele B cat si limfocitele T exprima pe suprafata lor molecule specifice: fiecare celula devine astfel capabila sa recunoasca un determinant antigenic specific. Aceste molecule de suprafata sunt reprezentate de imunoglobuline (pentru limfocitul B) si, respectiv, de receptorul celulei T (TCR).

Contactul cu antigen specific, in prezenta unor celule intermediare (macrofage) declanseaza proliferarea limfocitelor si transformarea lor in celule efectoare sau celule cu memorie.

Grupul limfocitelor T efectoare include:

- celule helper (CD 4+) care induc activitatea limfocitelor B si maturarea altor tipuri de limfocite T;
- celule supresoare – citotoxice (CD 8+) care deprima activitatea limfocitelor B si exercita un efect citotoxic asupra celulelor straine si a celor infectate cu virus.

  Raportul T helper/T supresor este de 2:1.

Celulele NK distrug celulele tumorale si pe cele infectate cu virus. Celulele K determina liza celulelor tinta invelite in anticorpi si adesea sunt denumite celulele citotoxice dependente de anticorpi (ADCC); ele sunt bine individualizate prin imunofenotipare. Ele exprima receptorul $Fc_{\gamma}R$ III (CD 16) si CD 56, dar obisnuit nu au Cd 3 sau TCR. Ele actioneaza independent de sistemul de histocompatibilitate MHC I si MHC II.

Un grup restrans de limfocite T, sunt cele citotoxice, care sunt dependente de sistemul de histocompatibilitate.

In concluzie, celulele T exercita urmatoarele functii:

1. mediaza imunitatea celulara impotriva virusurilor, fungilor si a germenilor intracelulari (mycrobacterii);
2. participa la reactiile de hipersensibilitate intarziata, de respingere a tumorilor si a grefelor;
3. coopereaza cu celulele B in producerea de anticorpi specifici;
4. deprima functia ceulululelor B.

Celulele T sunt, de asemenea, implicate in reglarea granulocitopoiezei cozinofilelor si posibil a eritropoiezei.

Limfocitele B tinere exprima pe suprafata lor molecule de tip IgM, IgD, IgG si IgA; procentele sunt 40, 30, 30 si 10%. Majoritatea limfocitelor B au atat IgM cat si IgD de suprafata; celelalte prezinta numai IgG sau IgA. O singura celula B exprima pe suprafata ei imuniglobine cu lanturi usoare de un singur tip, fie kappa, fie lambda (lanturile kappa sunt de 2 ori mai frecvente).

In urma contactului cu un antigen specific, limfocitele B se diferentiaza in plasmocite sau in celule B cu memorie. In cursul raspunsului imun primar, majoritatea anticorpilor sunt de tip IgM, iar raspunsul imun secundar apar anticorpi IgG, ca rezultat al activarii celulelor B cu memorie.

CAPITOLUL 2

ELEMENTE DE GENETICĂ ÎN HEMATOLOGIE

CODUL GENETIC. ACIDUL DEZOXIRIBONUCLEIC (ADN)

"Informaţia celulară este conţinută în ADN, acidul dezoxiribonucleic. Acesta este un polimer construit din nucleotide succesive legate între ele prin punţi de fosfor-diester. Un genom uman haploid conţine 3x10(la 9) nucleotide.

Structura primară a acidului dezoxiribonucleic este format:

- 4 baze diferite:

-2 baze purinice, adenina (A) si guanina (G);

- 2 baze pirimidinice, timina (T) şi citozina (C);

- molecule cu dezoxiriboza (molecule glucidică);
- acidul fosforic.

Asamblarea acestor componenti urmeaza modelul: baza purinică sau pirimidinică se uneşte cu D-dezoxiriboza şi formează un compus numit nucleozid. Nucleozidul se leagă prin legătură esterică cu acidul fosforic şi formează nucleotidul.

Dezoxiriboza, molecul glucidica,este numita pentoza, deoarece contine 5 atomi de carbon.Sistemul de numerotare al acestora este unic, notandu-se de la 1(prim) la 5(prim), ptr a se deosebi de 1,2,3 cifrele folosite in bazele nucleice.
Atomul C5' este asimetric şi dă posibilitatea existentei de izomeri levo- si dextrogiri.

Legătura între acidul fosforic cu dezoxiriboza are loc intre C3' şi C5. Se formează o legătură tip fosfor-diester intre două nucleotide care interesează C5” liber al unei 5”-OH pentoze, cu C3”---3”-OH din structura pentozei următoare

Acidul dezoxiribonucleic (ADN) are două catene, Fiecare catenă polinucleotidică are o direcţie, o polaritate specifică. Ea are două capete: capătul 5”, la care gruparca OH este liberă şi capătul 3', la care gruparca OH este de asemencà liberă.

Prin convenţie internaţională, structura unei catene polinucleotidice este scrisă cu capătul 5' la stânga şi capătul 3' la dreapta

În construcţia ADN matur, cele două catene polinucleotidice se dispun după modelul dublu helicoidal. Catena dispusa în partca de jos este denumita „antisens"

În această asamblare finala, fiecare din cei 23 de cromozomi are o lungime caracteristică şi o secvenţă de baze distinctivă şi de aceea poartă o informație genetică unică;' se reține' că specificitatea ADN este in intregime determinată de secvenţe bazelor. Setul complet de secvente din ADN, púrdie de toi cromozomii este denurnit genom şi variază foarte puțin intre membrii unei anumite specii. Un genom haploid uman contine 3 x 10(la 9) perechi baze.

Informația genetică duplicată, stocată în cele două catene ale ADN, permite repararea unei secvente codificate care a fost ”lezată" şi formarea de baze pentru replicarea ADN. In cursul diviziunii celulare, enzimele de tip polimeraza desfac dublul helix al ADN şi copiază fiecare calenă, folosind secvența de baze ca matriță pentru construcţia unor lanturi complementare. Fenomenul de replicare a ADN este asemănător cu un proces de fabricare a unui mulaj: suprafata catenei care urmează a fi copiată acţionează ca un suport ferm, pentru forma complementară în noua catenă. Această nouă catenă, la rândul ei, serveşte pentru a regenera matrita intr-un proces de replicare ulterioară.

In acest mod, celula care se divide transferă întregul conținut genetic progeniturii sale. Există, deci, o fidelitate extraordinară în replicarea ADN, care este „cruciala" pentru acurateţea transferului de informaţie genetică. In acest proces pot să apară erori care, in mod obişnuit, sunt suma unor mutații prin pierderi dare sunt mostenite in cicluri celulare succesive.

Cea mai mică unitate funcțională a informației conținute în ADN, este gena, care constă dintr-o porţiune a secvențelor de baze, necesare pentru a codifica o structură particulară a unei proteine. Procesul de sinteză a proteinei are loc in citoplasma celulei. De aceea, informaţia genetică din genomul nucleului trebuie să fie purtată în afara nucleului. Emisarul genei este ARN mesager (mARN). ARN mesagerul se formează în nucleu, unde, o enzimă- polimeraza -copiază bază după bază din catena suplimentară a ADN, numită catena, antisens"..Acest proces de transcripţie produce un ARN mesager, monocatenar, complementar, cư aceeaşi secventă ca şi în catena „sense“ a ADN. ARN diferă de ADN prin una din bazele sale (uracilul înlocuieşte timina). şi in compozitie (zahar riboza inlocuieşte dezoxiriboza). Riboza permite ca moleculele de ARN mesager, moştenite, să fie mult mai susceptibile la degradare decât dezoxiriboza din ADN şi ca o consecință,tipurile de ARN prezente in citoplasmă pentru producţia de proteină se pot schimba rapid ca răspuns la semnalele extracelulare.

În citoplasmă, sinteza proteinei, sau translatia, are loc la nivelul unor complexe macromoleculare numile ribozomi. Pe aceste linii microscopice de asamblare, ARN mesager este citit şi translatat în secvenţe de aminoacizi, care in continuare vor forma o proteină. În cursul acestui proces, celula converteşte cele patru baze ale ARN mesager, A, G, C, U, intr-un nou limbaj, in care vocabularul este format din 20 de aminoacizi esentiali. Remarcabil, fiecare celula, virtual în fiecare organism,de la bacterie până la ființa umană foloseste acelaşi cod al ARN mesager, „specific"pentru aminoacizii care intra in lanul de proteină. Codul este o tripletă de buze, denumite codon. De exemplu, tripleta de baze adenina uracil guanina (AUG) este codonul pentru metionină. Codonul uracil guanina uracil (UGU) este specific pentru aminoacidul, cisteina.

TRANSCRIPȚIA

Transcripţia este actul de generare a moleculei de ARN primar pe matricea din dublul helix al ADN din genă. Reglarea' expresiei genei se realizează predominant prin două momente: de reglare al procesului iniţierii şi elongatiei transcripţici.

Enzima ARN polimeraza este cheia sistemului. Ea actionează pentru a genera copii de ARNm in combinație cu un număr de proteine importante cu care formează complexul de iniţiere a transcripţiei. De regulă, există un start fix pentru transcripție şi un model fix pentru capătul final.

Gena are secvente numite exoni (secvențe care vor fi exprimate) şi introni (secvente care nu se exprimă, aflate intre exoni). Intronii încep invariabil cu un nucleotid cu secventa GT şi se termină cu AG. La ultimul exon există o secvență bogată în AT, care va constitui semnalul pentru terminarea procesului de transcripţie a ARN mesager. Transcripţia este inițiată de o secventă reglatorie care functionează în procesul de transcripție; promotorul care trebuie să fie „localizat" in directia 5” , in „amonte". Promotorii au câteva secvente comune. Acestia includ o cutie TAATA" (secvență bogată în adenină şi timina). Mutații în aceste regiuni, a promotorului, modifică transcripţia unei gene (exemplu: leziunea din talasemie),

Eficienta promotorului poate fi amplificată de o altă secvență a genei, numita enhancer" (,,amplificator").

Enhancerul poate fi identificat pe ADN, la distanţă de promotor, la distanta de locul de start al transcriptiei. Un element clasic, ,enhancer" (.,amplificator"), poate opera până la o distanță de 50 Kb sau mai mult de gens interesata de transcriptie.

Enhancerii sunt uneori responsabili pentru expresia aberantă a unor gene după un proces de rupere şi translocații cromozomiale. Astfel, o gena normală, liniştită, care promovează creşterea celulei (oncogen), dacă este dislocată şi aşezată la o poziţia apropiată de un enhancer" puternic, la un punct de rupere a cromozomului, poate fi activată după un model aberant, nepotrivit şi va fi asociată cu apariția neoplaziei .

Cum putem defini secvenţele reglatorii care generează transcriptia genci?

Enhancerii şi promotorii au fost definiti a avea roluri specifice, cu ajutorul unor metode in vitro. In acest sistem secvenţele de ADN clonate sunt introduse în culturi celulare printr-un test care utilizează drept vehiculi .plasmidele" sau .genele reporteri" şi sunt examinate pentru capacitatea lor de a activa expresia unei gene reporter.

Se reține posibilitatca că „enhancerii" acționeaza ca locuri de stocare" pentru proteinele reglatorii care se mişcă în vecinătatea unei gene, datorită afinităţii lor pentru secvenţele din „enhancer". Odată legate la un enhancer", aceste proteine ar putea participa la asamblarea complexului „transcripţie iniţiere" la un promotor.indoind helixul ADN după modelul ansa „loop"..

Din momentul in care gena care confine informatia pentru o proteină a fost transcrisă într-o copie de tip ARN primar in nucleu, urmează etape care controleaza citirea informației genetice. Astfel, in nucleu, ambele capete ale ARN primar monocatenar sunt modificate. La capătul 5', enzimele adaugă o structură nucleotidică specială denumită cap. Acest cap 5' creşte eficienta de translaţie de la ARN la proteină, ajutând ribozomii să se lege de ARN. La capătul 3', o nuclează recunoaşte o secventa bogată in adenină şi uridină într-o porţiune care nu este transcrisă. Enzima aranjează aproximativ 20 de baze la distanjă de capătul distal terminal al ARN. In momentul următor, o altă enzima modifică noul segment 3' clivat, transcris, prin adăugarea (,alungirea") de baza de adenina. Aceasta este denumită coada poli A şi probabil intervine în stabilizarea moleculei ARN primar.

Acidul ribonucleic (ARN) modificat, transcris, sufera in continuare un proces foarte rafinat denumit excizie (.splicing") şi coasere. In organismele superioare, cele mai multe secvenje dintr-o genă care codifică o proteină exoni sunt intrerupte de secvenţe care nu modifică şi se numesc introni. Maşinăria genetica poate să indepărteze acesti introni și depinde de un aparat molecular mare, care contine ARN şi molecule de proteină numite lizozomi (..spliceosome"). Aceste molecule, lizozomii, au o formă care este asemănătoare cu un lasou. Procesul de tip excizie scoatere a intronilor este o precizie absolută. Importanţa biologică a fenomenului exciziei a ARN. mesager nu este in intregime cunoscut. Totuşi, procesul de excizie poate fi un moment important in controlul expresiei genei, deoarece ARN mesager lung, nu poate părăsi nucleul până când splizomii nu indepărtează intronii din structura lui.

Fenomenul de excizie a intronilor are multe implicajii in manipularea informatiei genetice. De exemplu, secvenţele de introni ale genelor umane nu sunt prezente în formele mature de ARN transcrise, care au, o legătură directă cu producţia de proteina. In talasemie nu se produce excizia pentru lantul beta sau alfa, ARN mesager lung, nu poate fi citit in citoplasma, O aplicație practică ar fi următoarea: dacă gena care codifica insulina trebuie transferată la o bacterie pentru a produce o proteină recombinată, intronii ei trebuie în primul rând să fie excizati, îndepărtați, deoarece bacteria nu are introni şi nici aparat pentru a-i scoate din procesul de transcriptie a genei şi astfel nu se poate produce insulina recombinată.

TRANSLAȚIA

Informaţia genetică conținută în ARN mesager este supusă unui proces elaborat, denumit translație. Acest proces are loc numai in citoplasma, pe un suport de macromolecule numite ribozomi. Complexul ribozomi este format din subunitati de ARN. (30,:28) şi componenti proteici ataşaţi la capătul 5” al ARN mesager.

Pentru a transporta aminoacizi la complexul ribosomial este nevoie de molecule de ARN de transfer (ARNt) a caror molecule au forma de trifoi. Aceste molecule de ARN de transfer conțin un loc de recunoaştere care se leagă la o tripletă pe ARN mesager, zona formată din trei baze denumită anticodon. In partea opusă a ARNt există un loc care ataşează aminoacidul şi il duce cât mai aproape de complexul ribosomal. La nivelul ribozomilor se creează o legătură peptidică cu aminoacid adus de ARNt, punte peptidică care este in imediata vecinătate a capătului 5”.

Iniţierea procesului de sinteză se face intotdeauna cu codonul AUG, care se află foarte aproape de capătul 5' al ARN mesager. Acest codon AUG este codonul pentru metionina. Astfel începe sinteza proteică, ribozomi se deplasează ‚în aval" pe suprafaţa ARN mesager şi, în acelaşi timp, prin citirea informaţia conținută de ADN, se formează un lant de aminoacizi, un lanţ proteic. Progresiv, translația ajunge la codonul terminal, care serveşte drept semnal de oprire a sintezei de proteina. Ribozomul este apoi eliberat şi incepe sinteza unei alte molecule de proteină. Acest proces complex necesita prezenta unui factor de initiere (FI-1), a unui factor de elongare (EF) şi a unui factor de eliberare (RF). Pentru aceasta, este nevoia de molecule de ATP şi GTP. Se retine că citirea, translaţia la nivelul ribozomilor se face în direcţia 5'-3' a ARN mesager.

Deoarece codonul de inițiere este AUG şi el codifica metionina, aminoacidul terminal al unui lant proteic primar translatat este întotdeauna metionina. Aceasta este însă, în mod constant, îndepărtată din proteină prin „procesare".

Aceste modificări, denumite procesări ale proteinei formate in citoplasină, cuprind: îndepărtarea unor secvente, orientarea proteinei spre membrana, pentru a ajunge in exteriorul celulei. Alterari in

acest proces ar putea fi şi suplimentarea cu molecule glucidice, adăugarea de acizi graşi şi formarea unor punți interne sulfhidrice.

CICLUL CELULAR

Termenul de ciclu celular se aplică pentru o serie de evenimente care au ca rezultat duplicarea tuturor componentelor celulare şi impărțirea acestor componente in două părţi. Tradiţional, ciclul celular se împarte în patru faze clasice. Faza S, de sinteza, necesară pentru duplicarea ADN. Mitoza (M), când are loc condensarea cromozomilor, ataşarea de fusul mitotic şi împărţirea cromozomilor duplicate pentru cele două celule fiice. Intre perioada S şi perioada M există un timp in ciclul celular, douš perioade G1, şi G. Succesiunea cunoscută este următoarea în ciclul celular: celule, aflate în perioada de ”repaus" G0 intră în perioada G1 apoi progresează în perioada de sinteza s, in perioada G2 şi termina cu perioada de mitoză.

Se recunoaşte astăzi existenţa unor factori de creştere care induc celule stem pluripotente hematopoietice din stare „dormanta” G0 in faza G1 a ciclului celular.

O altă grupă de factori de creştere pot acționa pentru a mişca „ceasul mitotic" din faza G1, in faza S, de sinteza ADN (duplicarea ADN). Urmează perioada G2, scurta ca timp, în care au loc modificari citoplasmatice care conduc la momentul de
mitoză. Celula normala moare prin mecanismul ,morţii programate"-apoptoza- (o enzimă acționcază asupra ADN) sau prin agresiune din afara, necroza celulară.

La ciclul celular participă două categorii diferite de gene şi produsele lor proteice: proteine care au obligația de a determina progresia celulei dintr-o fază G1-S-G2, - M şi ciclinele, proteine care intervin pentru a controla, a stopa ciclul celular, dacă el nu se desfăşoară normal.

O descoperire relativ recentă sunt ciclinele, proteine care activează o subunitate catalitică a unei proteinkinaze, denumită p34cdk (34 00 daltoni). Felinele sunt numerotate cu literele: DD , D, C, B, B, A şi ciclina E.

Ciclul celular, nivelurile variatelor cicline, Ciclinele cresc şi scad dopl un model periodic care permlte controlul kinazelor in timpul ciclulul celular (e.dk). Aceste ciclindependent kinaze nonihorizcazk progresia celulei in ciclul celular, astfel ele pot purice de control" al evenimentelor esenţiale din ciclul celular, 1.. !

Astăzi se cunoaşte mult despre rolul oncogen al cielinei D. În aceste cazuri cantitatea de ciclina D, este amplificată şi, astfel, are loc o rată mai mare de transcripție, translație și chiar de rearanjare de gene.

ONCOGENE: PERSPECTIVE DE TRATAMENT

Concepția de oncogenic işi are originea în descoperirea că anumite elemente genetice virale, aparținând retrovirusurilor, sunt capabile de a forma tumori.
În 1970 s-a descoperit că aceste gene virale sunt ascunse in genomul normal al celulelor gazda. Patru aspecte importante sunt atribuite oncogenelor:

. 1. Aceeaşi genă, aparţinand acestei clase de oncogene este prezenta in mai multe specii diferite, de vertebrate şi nevertebrate, oncogena..ras" (sarcomul pisicii), care, de altfel este prototipul unei gene virale, a fost descoperită la toate organismele, de la ciuperci la om.

2. Aceste gene (oncogenele) sunt activate în situaţii obişnuite în absenja unui impact viral.

3. Efectele oncogenelor activate asupra celulelor sunt dominante; este vorba de efectul pozitiv asupra fenomenului de creştere.

4. Oncogenele modifică o proteina care este implicata in semnalul de transmitere „signal transduction". Acest semnal proteic realizează o transmitere specifică a mesajelor de reglare a creșterii. Mesajele vin din afara celulei şi ajung la maşina de control a replicării, aflată în nucleul celulei. Descoperirea acestei proprietăți a oncogenelor oferă, poate, una din cele mai accesibile explicatii a modelului după care celulele sunt mobilizate dintr-o stare de linişte, intr-o stare de proliferare şi, în acelaşi timp, deschide noi drumuri pentru a injelege ce se poate intampla cu un astfel de sistem reglator in tumori.

De aceea, a apărut ideea că mutația genei semnalului de transmitere celulară ,,cellular signal transduction gena" (acum denumită „proto-oncogena") ar putea permanent să activeze mesaje, ce mențin celulele in stare de diviziune. Dar drumul complet de la receptorul membranei celulare la nucleu a fost necunoscut. In 1983 se recunoaşte că factorii de crestere se ataşează de receptori, care la rândul lor vor fi conectați cu proteinele din familia ras. Modelul după care alte semnale, independente de factorii de creştere de la suprafață ajung in nucleu (adica la factori nucleari care controlează transcripţia şi replicarea) era incomplet cunoscută. Astăzi, noi posedam o înţelegere bună, cursivă, lineara, a căii parcurse de la factorul de creştere şi receptorul de membrana, la replicarea ADN. Au rămas inca necunoscute anumite momente importante ale mecanismelor celulare de semnalizare ce constituie in continuare obiectul unor studii foarte elaborate (ex.: receptorul fas).

Care sunt cele mai importante..concepte" privind drumul transmiterii semnalelor de la suprafata celulei, perceperea la nivelul nucleului, unde ce vor activa gena şi, în final, producția unor proteine cu rol bine definit in ciclul de viață al celulei?

Primul dintre acestea este rolul central al fosforilarii proteinei in semnalul de transmitere. Multe din proteinele folosite pentru semnalul de transmitere apartin una din cele două clase de protein-kinaze. Aceste proteine transferă grupările fosfat, de la ATP la aminoacizii tirozină, serină sau treonina, aflați la nivelul receptorului. Fosforilarea serveşte la două obiective de baza în transmiterea semnalului. Primul, aproape in toate instantele adaugarea de fosfor modifică conformatia proteinelor şi activează funcţiile lor enzimatice (obişnuit implicate în activitatea kinazelor) şi deci, in transmiterea/semnalului de la membrană.

În al doilea rând, fosforilarea, în special a tirozinei, creează locuri de adăpostire, de stocare la nivelul proteinelor, a informaţiei sosite prin receptor.

Apariţia acestor locuri de adăpostire, de stocare, are şi efectul de recrutare a altor proteine tintă, importante, care, la rândul lor, astfel activate pot interacționa în calea de transmitere a semnalului. Astfel, semnalul de transmitere nu este numai o transmitere lineară, progresivă a activării, dar şi o asamblare tranzitore a mesagerilor intracelulari, când serviciul lor o cere. Cu alte cuvinte;"proteinele agregate la locuri potrivite în celulă, de exemplu pe fața interna a membranci plasmatice sau în locuri critice, a locusurilor scheletonului celular, pot activa porțiunea superioară a semnalului de transmitere intracelular .

Al doilea concept important privind mecanismele semnal- transductiei işi are originea, cel puţin în parte, în modificarea percepţiei, a ceea ce constituie controlul de creştere. La data de azi (1996-1998) credem că semnalele dintr-o largă varietate de surse. reglează proliferarea celulei. Chiar şi această discuţie: în principal consideră că semnalele apar din interactiunea proteinelor cu functie de factori de creştere, ceea ce reprezintă o recunoaştere că o celulă primeşte o informatie importantă din mediul ambiant. Un exemplu este semnalul, care apare când moleculele de

adeziune pe suprafata celulei se leagă de liganzii lor corespunzători; pe matricea extracelulară, dar şi pe suprafata celulelor din vecinătate. Aceste semnale pot fi elemente in controlul proliferării celulei, De asemenea, factorji trofici

- cum ar fi insulina, citokinele, hormonii medulari adrenali- antimitogene-cum ar fi factor beta de transformare a creşterii (T.G.F.-beta) şi chiar antigenele, toate angajează receptorii aflati pe suprafata celulei, care apoi transmit mesaje, instruind celula, fie pentru un proces de proliferare, fie pentru oprirca proliferarii.

Un corolar al conceptului semnal-transducție este acela ca semnale cu efecte opuse asupra celulei folosesc deseori aceleaşi piese din sistemul de „alarmă" De exemplu, tratamentul liniei celulare PC 12 de la feocromocitomul de la sobolan, cu

factor de creştere, determină ca procesul de diviziune al.celulei să contınta din contră, factori de creştere a nervului determina stoparea diviziunii celulare şi a diferenţierii in neuroni. Ambii factori de creştere sunt angajati in caile de semnalizare care activează produsul genei ras, o enzima ce hidrolizează guanosine trifosfat (GTP). Clar, dacă acelaşi rezervor de proteine -ras molecule - răspund atat de factorul de creştere epidermal, cât şi de factorul de crestere al nervului, retea de transmitere, necesita o mai mare atentie. Enumerand compartimentele semnalelor care folosesc aceleasi componente pentru a transmite diferite comenzi In celule, trebuie amintit şi subliniat că aceasta rămâne o arie importantă de cercetare Soluţionarea acestei probleme impune intelegerea unui alt aspect, foarte important al mecanismului semnal mecanisme de transductie: despicarea semnalului (signal splitting"). Intr-o secvenjă rapidă de timp, după ce un receptor de transmembrană este activat prin legarea lui la ligandul său, el declanşează in activarca unuia sau mai multor elemente din porţiunea inferioară a cursului fluxului de informaţii. Astfel, semnalul poate lua diferite drumuri, imediat ce s-a născut. De exemplu, factorul de creştere a trombocitelor prin legarea la receptorul său, in pasul umător asamblează (..dimerizează") cele două molecule receptor in membrana celulei. Această imperechere realizată de factorul de creştere, activează domeniul de kinaze a două proteine din receptor. Apare fosfotirozina care creează un loc de stocare (găzduire"), care permite receptorului factorului de creştere al trombocitelor (PDF 6) să lege şi să fosforileze cel puţin alte 5 proteine şi care va propaga semnalul pe multe rute distincte. Toate acestea se desfăşoară pe faţa intermă a membranei plasmatice, acolo unde există domeniu citoplasmatic al receptorului care pătrunde in citoplasmă. Astfel, despicarea semnalului ne ajută la înţelegerea specificităţii lui. Receptorii cu diferite funcții pot activa proteine identice (proteina ras, fiind cel mai important exemplu), ci, de asemenea, interacţionează cu un subgrup distinct de proteine de semnalizare. Amestecul de interacțiuni pare suficient de variabil pentru a permite realizarea specificităţii diferitelor sisteme de receptori.

Modelul comun de transmitere al semnalului de la un anumit receptor conectat la procesul de control al cresterii (produsul genei ras) - a fost pe deplin confirmată. Proteinele ras au fost printre primele produse ale oncogenelor inplicate in cancerul uman şi pot fi un exemplu clasic. Pentru exemplificare vezi fig. 2.5.0 populație considerabila de molecule călăuzeşte molecula ras intr-o stare activă sau inactivă, timp în care se transmite semnalul de-a lungul unei căi direct la nucleu.

Acest mecanism complex incepe cu recrutarea proteinei Grb2 - proteină numită molecula , adaptor", care are singura functie de a transfera starea receptorilor activati la o proteină ras. Grb2 aflată în apropiere de fosfotirozine, dintr-un receptor activat, transfer semnalul la nivelul proteinei Sos. Sos este un factor nucleotidic de schimb care, in continuare, angajează proteina ras si ajuta la schimbarea din guanin-difosfat in guanin-trifosfat (GTP). Proteine, cum ar fi proteinele ras, devin activate când sunt legate de guanin-trifosfat (GTP) şi devin inactive când ele hidrolizează guanin trifosfatul în guanin-difosfat (GDP). În această sarcină, ele sunt asistate

de un alt factor GAP, o proteina care activeaza ras GTP fosfataza. Ras-GAP este ca însăşi o proteină de stocare, de adapostire pentru fosforilarea kinazelor din receptor.

Ras GAP limitează durata de viaţă a proteinelor ras de semnalizare prin creşterea activităţii ei intrinseci tip GTP-ază. Astfel, activarea şi inactivarea ras este atent orchestrată. In stare activă, proteinele ras schimbă o altă kinază, Raf. Raf continuă progresia lineara semnalului. Foloşind „în aval" trei elemente proteice, se ajunge la activarea factorilor de transcripție fos și jun. Aceştia, la rândul lor, induc transcriptia proto-oncogenei myc şi determină ca celula să suporte replicarea ADN şi diviziunea celulei.cum ar fi cele de tip RAS. Care anume semnal ar domina sau ar stopa, pare să depindă, cel puțin in parte, după un model cantitativ, cum ar fi acela al densitatii de receptori in căile de stimulare sau inhibare, precum şi de intensitatea şi durata fiecărui tip de semnal. Odată ce reteaua de diagrama diferitelor tipuri de celule tumorale sunt mai bine inteles, ar putea fi posibil să cuplăm strategii care ţiniesc căile de semnalizare activ mitogenice cu intensificarea - fie biologic (prin factori trofici), fie farmacologic (prin medicament desemnat raţional) - a semnalelor naturale care, specific, inhibă căile de creştere.

Aprofundarea acestor cunostinte despre mediul ambiant, ligand, receptor, sistemele de semnalizare intracelulare, promite forme combinate şi eficiente de tratament in cancer.

Genele supresoare tumorale

Genele supresoare tumorale reprezinti o familie de gene care acţionează după un model recesiv în celule .

Genele supresoare tumorale

Gena	Locatia	Tumori mostenite	Functia
Rb	13 q 14	Retinoblastomul. Osteosarcomul	Regleaza factorul de transriptie E2F
P53	17 p 13	Osteosarcom. Adrenocorticale,san,creier	Factor de transcriptie
WT-1	11 p 13	Tumora Wilms,Nefroblastomul	Factor de transcriptie
NF-1	17 q	Neurofibromazota	Proteina care activeaza GTP,actioneaza cu ras
APC	5q 21	Polipoza adenomatoasa	Necunoscut
DCC	17 q 21	Nu se cunosc forme mostenite	Proteina de membrana cu functie de adeziune

Daca au loc mutații la nivelul genei supresoare tumorale, ele pot să pivească ambele alele. Dacă mutatia are loc într-o alelă şi alela-salbatica"-normal rămâne neatinsă, gena supresoare îşi va manifesta efectul negativ inhibitor. Dacă mutatia are loc în alela normală „sălbatică", efectul inhibitor, negativ, dispare.

Când ambele alele sunt absente, gena supresoare este pierduta şi absenta conduce la evenimente anormale în ciclul celular.

Se consideră că o mare parte din genele supresoare, tumorale acţionează .ca puncte de control in ciclul celular normal.

CAPITOLUL 3

ANEMIA SI POLICITEMIA: CONSIDERATII GENERALE

ANEMIA

DEFINITIE

Anemia este definita prin scaderea concentratiei hemoglobinei (Hb) sub valorile normale acceptate, pentru un individ de o anumita varsta sau sex. Valorile normale pentru concentratia hemoglobinei (Hb) sunt redate in tabelul III-1.

Tabelul III-1

Valorile normale ale hemoglobinei

	Hemoglobina g/dl
Sange cordon ombilical	13,5-20,5
Prima zi de viata	15,0-23,5
Copii 6 luni – 6 ani	11,0-14,5
Copii 6 ni – 14 ani	12,0-15,5

Adulti barbati	13,0-17,0
Adulti femei	12,0-15,5
Femei gravide	11,0-14,0

Aceste valori sunt obisnuit determinate pe grupe de persoane sanatoase, la care s-a exclus posibilitatea unei deficiente in nutritie; de asemenea, aceste determinari au fost facute la grupe reprezentative de persoane, la care nu s-au administrat in ultimul an medicamente stimulatoare pentru eritropoieza (exemplu: medicamentele cu fier si acid folic sau polivitaminele cu B_{12}). Au fost excluse persoanele din zonele geografice unde exista o incidenta crescuta a genelor pentru talasemie.

La nastere, valoarea medie a hemoglobinei este de 17,0 g/dl si creste la 19,5 g/dl dupa 24 ore.

Nivelele Hb la copii intre 6 luni si 6 ani tind sa fie mai mici decat la adulti. La barbatii adulti valorile Hb sunt mai mari decat la femeile normale, care nu sunt insarcinate. Explicatia pare a fi datorata nivelelor mai mari de androgeni la barbati.

Dupa 70 ani, nivelele de hemoglobina la barbati scad moderat sub valorile normale ale adultului.

La altitudini mari, de peste 2500 m, toti indivizii sanatosi au Hb crescuta. Nivelele de hemoglobina scad in timpul sarcinii normale, atingand valorile cele mai mici in a 32-1 saptamana. In medie, Hb se reduce cu 1,5-2 g/zi. Desi masa de eritrocite creste cu 300 ml, valorile hemoglobinei in sarcina sunt mai mici decat cele normale, datorita expansiunii volumului plasmatic cu aproximativ 1 litru, cu hemodilutie consecutiva.

Variatiile fiziologice ale hemoglobinei constituie un reper incontestabil in evaluarea hematologica a unui pacient. Totusi, exista un procent de 5 persoane sanatoase la care hemoglobina nu se incadreaza in limitele mentionate mai sus. Aceste vriatii in plus sau in minus ale hemoglobinei pot fi prezente la oamenii sanatosi, in absenta unei boli hematologice.

Pe de alta parte, Hb unui individ se poate mentine aparent in limite normale, desi in realitate este redusa cantitativ datorita unei afectiuni. Mai precis o concentratie normala a Hb nu exclude in mod obligatoriu o afectare a eritropoiezei.

Exista doua situatii patologice in care Hb este in limite normale:

- scurtarea duratei de viata a hematiilor intr-o anemie hemolitica, paralele cu o eritropoieza accelerata de 6-8 ori, care compenseaza scaderea Hb;
- hemoconcentratie prin deshidratare, care mascheaza valorile scazute ale Hb.

La indivizii sanatosi exista o stransa corelatie intre hemoglobina, numarul de hematii si hematocrit. Numarul normal de hematii variaza intre 4,5-5,8 x 10^{12}/l la barbati si 4,1 – 5,2 x 10^{12}/l la femei.

Valoarea hematocritului variaza la barbati intre 40-51% si la femei intre 36-46%.

RASPUNSURILE ADAPTATIVE LA ANEMIE

Cresterea concentratiei de 2,3 difosfoglicerat in hematii este un mecanism compensator important in anemie. Aceasta cauzeaza o reducere a afinitatii Hb pentru oxigen (o deplasare a curbei de disociere a hemoglobinei spre dreapta) si, in consecinta o crestere a eliminarii oxigenului la nivelul tesuturilor.

Cand Hb scade sub 7-8 g/dl, modificarile adaptative se pot observa in special la nivelul cardiovascular: cresterea debitului cardiac de repaus, atat prin cresterea volumului-bataie cat si prin accelerarea frecventei inimii.

SIMPTOME SI SEMNE ALE ANEMIEI

Anemia constituie o manifestare a unei afectiuni ascunse; ea nu este o boala propriu-zisa. De aceea, afirmarea diagnosticului de "anemie secundara" este un pleonasm. Simptomele prezente la un pacient anemic se datoreaza atat bolii de baza cat si anemiei inspsi. Simptomele datorate anemiei sunt in functie de valorile Hb, de modul de instalare a anemiei, de varsta pacientului si de rezervele cardiovasculare.

Astfel, cand anemia se instaleaza progresiv la copiii si adultii tineri, simptomatologia este moderata, atat timp cat hemoglobina se mentine deasupra valorii de 7-8 g/dl.

Daca anemia se instaleaza rapid, manifestarile clinice sunt importante chiar la valori mai mari ale Hb. Pacientii in varsta dezvolta mai rapid simptome cardiace si de hipoxie cerebrala datorita afectarii aterosclerotice a sistemului vascular.

Semnele fizice sun reprezentate de: cresterea presiunii pulsului, sufluri cardiace de anemie, semne de insuficienta cardiaca congestiva, iar ocazional hemoragii si exsudate in retina. Anemia severa ar putea cauza o modificare moderata a functiei renale, cu proteinurie, precum si o stare subfebrila.

La adultii sanatosi, exista o stare de echilibru intre rata de eliberare a hematiilor nou formate din maduva osoasa in circulatie si rata de indepartare a hematiilor imbatranite din circulatie de catre sistemul monocit-macrofag. Sunt posibile variate mecanisme care ar putea conduce la anemie. Acestea sunt aratate in tabelul III-2.

Tabelul III-2

Mecanismele anemiei

Pierderea de sange
Scaderea duratei de viata a hematiei (anemie hemolitica):
- Defecte congenitale (sferocitoza ereditara, siclemia, hemoglobinopatia cu Hb.S)
- Defecte dobandite (malarie, unele medicamente).
Reducerea ratei de formare a eritrocitelor:

Anomalii in formarea hemoglobinei.

Anomalii in functiile eritroblastului.

(exemplu: proliferarea anormala a eritroblastilor din maduva osoasa).

Retinerea si distrugerea hematiilor intr-o splina marita de volum.

Cresterea volumului plasmatic (splenomegalie, sarcina).

PIERDEREA DE SANGE

Pierderea unei cantitati de 500 ml sange in decurs de cateva minute nu are efect asupra sistemului circulator. Se produce o scadere usoara a presiunii venoase centrale, dar pulsul si tensiunea arteriala se mentin in limite normale.

O pierdere rapida de 750 ml sange cauzeaza o scadere brutala a presiunii venoase centrale, a debitului cardiac, a tensiunii arteriale alaturi de o vasoconstrictie periferica.

Pierderea acuta de 1-2 litri de sange determina modificari circulatorii importante. Pacientii au tegumente reci si umede, sunt anxiosi si uneori isi pot pierde starea de constienta.

Initial, dupa o hemoragie acuta, nivelul hemoglobinei este normal deoarece o reducere brutala a volumului sanguin este corectata printr-o expansiune lenta a volumului plasmatic, in decurs de 36-72 ore. Aceasta duce la aparitia treptata a anemiei normocrome, normocitare, cu scaderea in continuare a valorilor hemoglobinei. Alte modificari care se pot observa in sange dupa o hemoragie acuta sunt mentionate in tabelul III-3.

Tabelul III-3

Alte modificari care se pot observa in sange dupa o hemoragie acuta

1. recticulocitoza (cu valoarea cea mai mare in a 7-10-a zi);
2. leucocitoza moderata cu neutrofilie si o tromcitoza moderata care dureaza cateva zile;
3. prezenta de metamielocite si de mielocite pe frotiul de sange periferic;
4. normoblastii ar putea aparea in sangele periferic numai dupa o hemoragie severa.

REDUCEREA DURATEI DE VIATA A HEMATIILOR SI SCADEREA PRODUCTIEI DE ERITROBLASTI

Anemiile care apar ca urmare a reducerii duratei de viata a hematiei sunt discutate in capitolul urmator, capitolul 4. Bolile asociate cu o scadere a productiei de eritroblasti sunt prezentate in tabelul III-4.

Tabelul III-4

Cauze care reduc productia de hematii

Deficienta de substante esentiale pentru eritropoieza:
Fier, folati, vitamina B_{12}, proteine, vitamina C.
Boli cronice:
Boala cronica renala, infectii, boala hepatica, boli de colagen.
Infiltratia maduvei:
Carcinom, mielom, leucemie, limfom, mielofibroza, boala de depozitare a lipidelor (boala Gaucher), boala oaselor de marmura.
Boli endrocrine:
Hipofunctia tiroidei, a testicolelor, a glandei suprarenale sau a lobului anterior al glandei hipofize.
Agenti mielotoxici, anemia aplastica si aplazia pura a seriei eritoblastice.
Alte cauze:
Anemie megaloblastica independenta de vitamina B_{12} si de fosfati, sindroamele beta-talasemice, sindromul mielodisplazic (inclusiv anemia sideroblastica primara dobandita) anemia congetinala diseritropoietica, malaria.

In insuficienta renala cronica, anemia este in principal datorata reducerii productiei de eritroproteina din cauza bolii renale si efectului "inhibitor" al "toxinelor uremice" asupra maduvei osoase.

CALSIFICAREA ANEMIILOR

Clasificarea anemiilor constituie o problema dificila datorita complexitatii factorilor clinici, morfologici, etiopatogenici si de cinetica celulara.

Astazi acceptam existenta urmatoarelor modalitati de clasificare:

1. clasificarea clinica;
2. clasificarea morfologica;
3. clasificarea eritrokinetica;
4. clasificarea etiopatogenica.

Anamneza si examenul fizic, cu urmarirea celor mai importanti parametri (puls, TA, numar de respiratii), completate cu testele de laborator, reprezinta in fapt o parcurgere "spontana" a clasificarilor anemiei (vezi figura 3.1.).

In final, se poate ajunge la descoperirea cauzei generatoare de anemie, care va permite un tratament specific. Daca urmarim acest plan de investigatii, accesibil pentru orice medic, se poate aprecia ca in 70% din cazuri se obtine un diagnostic etiopatogenic corect.

1.. Clasificarea clinica

Anamneza repetata si minutioasa, alaturi de un examen fizic complet si corect efectuat, constituie punctul de plecare al clasificarii clinice. Aceste date permit incadrarea anemiei bolnavului intr-o forma usoara, medie sau severa, dar confirmarea gradului de anemie se face numai in functie de valorile hemoglobinei si hematocritului.

Anemie – usoara: Hb = 11 – 8 g/dl, Ht = 39 – 30 %;

- medie: Hb = 8 – 6 g/dl; Ht = 30-22 %;
- severa: Hb = 6 – 2 g/dl, Ht = 22 – 10 %.

Exista cazuri exceptionale cand valoarea Hb este practic 0 la determinarea obisnuita (hemoliza brutala intravasculara), iar pacientul poate supravietui 7 ore datorita oxigenului dizolvat in plasma.

2. Clasificarea morfologica

O metoda utila pentru clasificarea anemiilor se bazeaza pe examinarea frotiului de sange periferic. Pe frotiu se descriu aspectele morfologice ale hematiei legate de dimensiunea acesteia si de incarcarea cu hemoglobina. Astfel, eritrocitele pot fi nomicite, microcite sau macrocite, normocrome sau hipocrome.

Hematiile normocitare sunt hematii cu diametru normal; hematiile microcitare au un diametru mai mic de 7 m .

Normocromia desemneaza o coloratie normala a hematiilor, cu o zona centrala palida, ocupand o treime din diametrul celulei. Hipocromia defineste o paloare a hematiilor cu o zona centrala marcata ("hematii goale").

Astazi, pentru clasificarea morfologica a anemiilor se completeaza examinarea frotiului de sange periferic cu determinarea volumului eritrocitar mediu (VEM).

Cele trei tipuri morfologice de anemii si cauzele care le pot genera sunt expuse in tabelul III-5.

Totusi, in practica, indicii eritrocitari se folosesc numai in situatiile in care frotiul de sange periferic nu este sugestiv, datorita unui polimorfism al populatiei de eritrocite. Valorile acestora sunt mentionate in tabelul III-6.

Tabelul III-5

Clasificarea morfologica a unei anemii

Tipul anemiei	Volumul mediu	Cauzele

	eritrocitar (VEM)	
Microcitara si hipocroma, sau numai microcitara*	Mic	Deficienta de fier, sindroamele talasemice, unele cauze ale anemiei din bolile cronice
Normocitara si normocroma	Normal	Anemia post-hemoragica acuta, unele anemii hemolitice, anemiile leucoeritroblastice
Macrocitara	Mare	Alcoolism, deficienta de acid folic si de vitamina B_{12}

- Pe frotiurile de sange, hematiile microcitare nu sunt intotdeauna hipocrome.

Tabelul III-6

Valorile normale ale indicilor eritrocitari la adulti

Indici	Valorile normale (limitele lor)
Volumul mediu eritrocitar (VEM)*	82 – 92 fl
Hemoglobina corpulsculara medie (HCM)	27 – 33 pg
Concentratie medie de hemoglobina pe eritrocit (CHEM)	32 – 36 g/dl

- Volumul mediu eritrocitar poate avea o valoare mai mica (intre 70 si 74 fl), la varsta de 1-8 ani, in absenta unei deficiente de fier.

Alaturi de modificarile legate de dimensiune si culoare, se mai pot descrie pe frotiu anomalii de forma a hematiilor, cu unele aspecte particulare.

Anizocitoza si poikilocitoza sunt termeni folositi pentru a caracteriza pe frotiu, hematiile cu forma si diametru extrem de variate. Gradele de anizocitoza si poikilocitoza depind de modificarile existente la nivelul precursorilor seriei eritrocitare (normoblasti).

Aceste anomalii nu sunt specifice pentru o anumita boala. Totusi, exista 3 conditii clinice in care anizocitoza si poikilocitoza marcata constituie elemente orientative de diagnostic: anemia microangiopatica, anemia Biermer si mielofibroza cu metaplazie mieloida.

Hematiile "in tinta" constituie o varietate morforlogica particulara a hematiilor in care se descriu doua zone intens colorate:

- una la periferia eritrocitului;
- cealalta in centrul acesteia. Intre aceste doua zone colorate hematia apare palida.

Hematiile cu acest aspect se observa in: sindroame talasemice, carente de fier, hemoglobinopatii de tip HBS, HbC, HbE, boli hepatocelulare, ictere colestatice, postslenectomie si in hiposplenism.

Sferocitele si microsferocitele. In anumite tipuri de anemii hemolitice, o parte din hematii isi pierd aspectul biconcav si devin mai mult sau mai putin sferice. Pe frotiurile de sange, ele apar ca hematii intens colorate, care si-au pierdut zona centrala palida si au un diametru mai mic decat hematia normala.

Sferocitele sunt observate clasic in sferocitoza ereditara dar si in anemia hemolitica autoimuna cu anticorpi la cald. Acestea pot fi prezentate de asemenea pe frotiu, cand hematiile sunt distruse prin caldura (cum ar fi pacientii cu arsuri) sau prin substante chimice.

Corpii Howell-Jolly, sunt corpusculi rotunzi, intraeritrocitari formati din material nuclear. Acesti corpi Howell-Jolly se afla in hematiile circulante, dupa splenectomie sau la pacientii cu hiposlenism. In anemiile megaloblastice, in maduva osoasa se formeaza multi eritroblasti cu corpi Howell-Jolly; de aceea in sangele periferic al unui astfel de pacient poate sa apara aceasta anomalie morfologica.

De asemenea, corpii Howell-.Jolly sunt prezenti in unele hematii tinere care parasesc rapid maduva osoasa. Ei sunt indepartati de catre sistemul monocitmacrofag, probabil in primul pasaj prin microcirculatia splenica.

In consecinta, la persoanele normale cu o splina functionala, aceste hematii cu corpusculi Howell-Jolly nu sunt prezente.

3. Clasificarea eritrokinetica

Se bazeaza pe numarul de reticulocite si pe aspectul seriei eritroblastice din maduva osoasa.

Se considera ca numarul de reticulocite reprezinta indicatorul cel mai fidel al turnover-ului eritrocitar. Normal, reticulocitele reprezinta 0,5-1 % la numaratoarea obisnuita. Daca acest numar este crescut, eritropoieza este eficienta si "regenerativa" si poate compensa partial sau total distrugerea sau pierderea hematiilor.

Daca numarul de reticulocite este scazut, eritropoieza este considerata ineficienta, fie prin distructia intramedulara a seriei rosii (anemie Biermer), fie prin dislocarea ei (leucemie acuta).

Retinem ca, in cazul numarului crescut de reticulocite este obligatorie raportarea acestuia la valoarea Hb. Cu cat este mai mica valoarea Hb, cu atat numarul de reticulocite trebuie sa fie mai mare. Daca nu se realizeaza aceasta concordanta este vorva de o eritropoieza ineficienta.

Pentru completarea datelor de eritrokinetica, intr-un numar de cazuri, se apeleaza la marcarea eritrocitelor cu Fe radioactiv si urmarirea turnover-ului celular.

4.Clasificarea etioplatogenica

Reprezinta momentul esential in etapele de diagnostic. Cu ajutorul mijloacelor paraclinice se pot stabili cauzele si mecanismele de producere ale anemiei, descrise anterior.

De retinut ca frotiul are un rol deosebit de important in stabilirea diagnosticului; acesta poate fi repetat, pastrat si reexeminat de un hematolog cu experienta.

POLICITEMIA

Termenul de policitemie este de obicei folosit pentru a desemna o valoare a hematocritului mai mare de 52 % la barbati si de 47 % la femei. Cresterea hematocritului este asociata cu o crestere a valorilor hemoglobinei si a numarului total de eritrocite.

Policitemia poate aparea fie prin cresterea volumului total de hematii in circulatie (policitemie adevarata), fie prin scaderea volumului plasmatic (policitemie relativa sau aparenta). Din acest motiv, masurarea masei totale de eritrocite, prin marcare cu ^{51}Cr sau ^{99m}Tc si a volumului plasmatic utilizand albumina plasmatica marcata cu ^{125}I, este adesea necesara pentru investigarea pacientilor.

Masa totala eritrocitara este exprimata ca un procent din valoarea standard, raportata la varsta si greutate.

Un pacient este considerat a avea o policitemie adevarata cand masa totala eritrocitara depaseste cu 30% valoarea normala, calculata pentru femei si cu 25% valoarea normala pentru barbati.

valoarea absoluta a masei totale eritrocitare este de 35 ml/kilocorp pentru femei si 37 ml/kilocorp pentru barbati. Bolile asociate cu policitemie adevarata sau aparenta sunt prezentate in tabelul III.7.

Tabelul III.7

Cauzele policitemiei

Policitemie adevarata	Policitemie aparenta (policitemie relativa)
Primara Policitemia vera rubra Eritrocitoza idiopatica Secundara • Datorita unei hipoxii tisulare generalizate, care stimuleaza productia de eritropoietina	Deshidratare Varsaturi Diaree Arsuri **Aport redus de lichide** Policitemia de stres

- Altitudine mare - Boli cardiace cianogene - Boli pulmonare hipoxice - Hipoventilatiee alveolara - Datorita unei obezitati excesive - Fumatul excesiv (formarea de carboxihemoglobina) - Hemoglobine anormale cu afinitate crescuta pentru oxigen (hemoglobinopatia Chesapeake) • Datorita unei secretii excesive de eritropoietina -Boli renale (carcinom, chisturi renale, hidronefroza, transplant renal) - Carcinom hepato-celular, hemangioblastom cerebral, fibromiomatoza masiva uterina	(mai este denumita policitemia Gaisböck)

O cauza importanta este policitemia vera, boala neoplazica ce face parte din sindromul mieloproliferativ. In policitemiile secundare, mecanismul patogenic este reprezentat de o secretie inadecvata de eritropoetina care se datoreaza fie unui sindrom paraneoplazic, fie productiei excessive la nivelul unui rinichi hipoxic sau supus unei compresii. Compresiunea renala poate fi realizata de chisturile renale sau de alte tumori. Ocazional poate fi discutata posibilitatea unei productii crescute de eritropoietina in absenta unei hipoxii generalizate, datorita afectarii fluxului renal, cu o hipoxie renala selectiva.

Avand in vedere numeroasele cauze ale policitemiei secundare mentionate in tabelul III.7, este evident ca diagnosticul de policitemie adevarata necesita un numar de investigatii suplimentare cum ar fi: masurarea saturatiei in oxigen a sangelui arterial, electroforeza hemoglobinei (2/3 din Hb anormale au afinitate crescuta pentru oxigen), determinarea curbei de disociere a Hb, pielografia si masurarea nivelului seric al eritropoietinei.

Policitemia cronica aparenta (policitemie de stres) este o conditie de etiologie necunoscuta care apare, de obicei, la indivizii hipertensivi, obezi, de varsta medie si la cei cu tendinta de anxietate.

Policitemia indiferent de cauza care a produs-o, este insotita de o crestere a vascozitatii sanguine, realizand tabloul clinic al sindromului de hipervascozitate. Principalele simptome sunt atribuite reducerii fluxului sanguin la nivelul cordului, sistemului nervos central si membrelor.

In policitemia vera exista o mare incidenta a episoadelor vaso-oclusive care sunt explicate atat prin numarul crescut de hematii cat si prin trombocitoza asociata.

Riscul accidentelor vaso-oclusive in policitemia secundara nu a fost evaluat, dar existenta lor este posibila intr-un procent mai redus. Astfel, la pacientii cu policitemie secundara bolilor cianogene, de cord si in conditiile existentei unei Hb anormale cu afinitate crescuta pentru oxigen au fost descrise episoade trombotice intermitente.

De asemenea, pacientii cu policitemie de stres sunt predispusi la accidente trombotice coronariene si cerebrovasculare, a caror patogenie este insa insuficient explicata de valoarea crescuta a hematocritului.

In timp ce rolul sangerarilor controlate este evident pentru tratamentul policitemiei vera, in policitemia secundara si cea de stres constituie o problema discutabila.

Unii medici – prudent – prescriu flebotomia numai la pacientii cu manifestari evidente ale sindromului de hipervascozitate. In cazul policitemiei secundare, cand se indica sangerarea pentru insuficienta coronariana sau cerebro-vasculara hematocritul nu trebuie sa scada sub valoarea de 50-52% deoarece, in aceste cazuri, policitemia apare ca un element compensator al biopsiei tisulare.

In policitemia secundara bolilor pulmonare hipoxice, flebotomia poate imbunatati performanta cardiaca si fluxul cerebral.

Capitolul 4

ANEMIILE HIPOCROME

DEFINIȚIE ŞI CLASIFICARE

Anemiile asociate cu o concentraţia eritrocitară medie in hemoglobina (CHEM) scăzută sunt denumite hipocrome. Când volumul eritrocitar mediu este de asemenea redus, anemia este considerată hipocromie microcitară.

Anemiile hipocrome, a căror principală caracteristică este reprezentată de o sinteza deficitara a hemoglobinei, pot fi clasificate in trei categorii in funcţie de tipul componentei afectate (vezi tabelul IV-1).

Clasificarea anemiilor Hipocrome

1. Tulburări în metabolismul fierului:
Anemia prin deficienta de fier.
Anemia din bolile cronice

2 Tulburări în sinteza porfirinelor şi a hemului:
Anemii sideroblastice.

3. Tulburări in sinteza globinei:
Talasemii.
Hemoglobinopatii caracterizate prin hemoglobine instabile.

TULBURĂRI ÎN METABOLISMUL FIERULUI. ANEMII PRIN DEFICIENTĂ DE FIER

DISTRIBUTIA FIERULUI IN ORGANISM

Compuşii esenţiali care conţin fier sunt larg răspândiţi în plasmă şi în toate celulele. Deoarece forma ionizată este toxica, fierul este intotdeauna inglobat in gruparea hem a unor hemoproteine (hemoglobina, mioglobina, citocromi) sau legat de o proteina (transferina, feritina şi hemosiderina).

Cantitatea totală de fier in organism este in medic 4 g,cu variaţii în functie de sex 50-55 mg/kilocorp la barbati si(35-40 ng/kilocorp la femei.

Distribuţia fierului in organismul unui adult este ilustrată în tabelul IV-2.

	Continutul in Fe% din Fe total (mg)			
Compusul	Barbat (70kg)	Femeie(50kg)	Barbat	Femeie
Hemoglobina	2670	1500	69,6	73,1
Mioglobina	350	220	9,1	10,7
Enzime(catalaza,citocrom C)	8	7	0,2	0,3
Transferina	6	5	0,2	0,2
Feritina-hemosiderina	800	320	20,9	15,7
Total	3834	2052	100,0	100,0

Cea mai mare parte a fierului din organism este conţinută in hemoglobina din hematii. Cantitati mai mici de fier se găsesc in mioglobina din fibrele musculare si in enzimele respiratorii ale tuturor celulelor. Doa un procent infim se găseşte in plasma, legat de transferina.Restul fierului este stocat în macrofagele din splina, măduva osoasă şi ficat (in ficat fierul se depune atât în celulele Kupffer cât şi in hepatocite). Depozitele de fier pot varia intre 0-1 g sau mai nult .Există doua forme de stocare a fierului: feritina şi hemosiderina. Feritina este formata dintr-un înveliș proteic și un miez care poate conține până la 4 500 atomi de fier, Hemosiderina este compusă din agregate moleculare de feritina, care si-au pierdut partial invelisul proteic. Feritina este solubilă in apă şi nu poate fi vizualizată pe secțiunile histologice obişnuite, fiind indepărtata in cursul preparării, Pe de altă parte,hemosiderina insolubilă este evidentiata sub forma unor granule albastre in interiorul macrofagelor, cand se folosesc coloranții de tip Perls, cu albastru de Prusia. Cand depozitele totale se modifică, cele două forme cresc sau se redue impreună.

DINAMICA FIERULUI IN ORGANISM (ferokinetica)

Fierul circula continuu în plasmi legat de o proteina numita transferină sau siderofilina. Marea majoritate a fierului circulant provine din distructia zilnică a aproximativ 20 ml de hematii, care eliberează astfel 20 mg de fier. Restul fieruluj plasmatic deriva din formele de depozit şi din cantitatea absorbita intestinal). Fierul din plasmă este rapid indepartat, fiind preluat in special de tesutul eritropoietic din măduva osoasă, dar şi de alte celule cu turn over crescut. De asemenea, o parte din fier va fi dirijată spre locurile de depozit. Timpul de înjumătăţire a fierului plasmatic este de aproximativ 100 de minute

ABSORBTIA FIERULUI

O dietă zilnică, obişnuită, conţine in medie 10-20 mg de fier. Doar5 -10% din fierul alimentar (cca 1 mg) este absorbit intestinal şi utilizat de organism pentru a contrabalansa pierderile zilnice. Cantitatea de fier absorbită poate însă să crească la valori de 5 ori mai mari decât cele normale, in situațiile in care depozitele de fier sunt epuizate sau eritropoieza este accelerata. In caz de hemosiderina sau de hipoplazie a seriei rosii absorbtia intestinala este diminuată. Astfel, balanta fierului este menţinută prin procesul de absorbţie intestinală ("bariera intestinală"), care are la bază un mecanism incă neelucidat.

Fierul este absorbit in jumatatea superioară a intestinului subțire.

In alimente, fierul se gaseste in special sub forma organizata (conţinut in gruparea hem din hemoglobina, mioglobina şi din alte hemoproteine din alimentele de origine animala), dar posibil şi sub forma anorganic de saruri. Fierul sub formă de hem se absoarbe cel mai bine, fiind preluat de celula epiteliala intestinala, la nivelul căreia este desfacut de inelul de porfirina. Disponibilitatea pentru absorbţie a fierului anorganic este mult mai mică şi depinde de starea de oxidare si de solubilitate a fierului, precum şi de substantele chelatoare din alimente. Inainte de a fi absorbit fierul feric (Fe3+) este redus in fier feros (Fe2+). Acidul ascorbic- stimulează absorbtia deoarece, pe de o parte este un agent reducător, iar pe de alta parte formeaza un complex molecular cu fierul, care este absorbit. Citraţii
cresc solubilitatea fierului anorganic facilitand absorbtia. Fitatii şi alte substanţe continute in cereale formează complexe insolubile cu fierul, impiedicându-i absorbtie A fost stabilit că incidenta atrofiei gastrice şi a aclorhidriei este mai mare la pacienţii cu anemie feripriva decât la indivizii sănătoşi, dar asocierea modificărilor gastrice cu deficienta de fier este inca controversată. Probabil că atrofia gastrică constituie un eveniment primar, iar aclorhidria consecutivă este un factor etiologic in aparitia carentei de fier. In cele mai multe cazuri, se menţine atrofia gastrică după un tratament cu fier. Pacientii tratati cu cimetidina (inhibitor al secreției gestrice) sau cei gastrectomizati prezintă o absorbţie deficitară a fierului.

PIERDERILE DE FIER

Nu există un mecanism specific de secretie fierului Totuşi, există zilnic o pierdere inevitabila de fier ca rezultat al exfolierii continue a celulelor epiteliale de la nivelul tractului gastrointestinal şi urinar precum și al pielii celule ale căror enzime conţin fier. La adult, aceasta pierdere este estimata la 0.6-1 mg/2. La femei, exista o pierdere in plus de fier

STADIILE DEFICIENTEI DE FIER

in stadiile initiale ale deficientei de fier există semne de anemie, iar concentraţia plasmatică a fierului este menţinută in limite normale, prin spolierea progresiva a depozitelor. Sideremia incepe să scada in momentul disparitiei complete a depozitelor de fier, stadiu denumit sideropenie fara anemie, deoarece valoarea hemoglobinei nu este incă modificată. Dacă deficienta se accentueaza, fierul nu va mai fi intr-o cantitate suficientă pentru a mentine masa de eritrocite, cu apariţia consecutiva a anemiei feriprive (vezi tabelul IV-3).

Stadiile deficientei de fier

Stadiul	Depozitele de Fe	Fe plasmatic	Anemia	Hipocromia/ microcitoza	Observatii
Normal	Normale	Normal	Absenta		
Deficienta	Reduse	Normal	Absenta		Creste

pre-latenta					absorbtia Fe
Deficienta latenta	Absente	Redus	Absenta		Creste PLE(protoporfirina libera eritrocitara)
Anemie feripriva in stadiul initial	Absente	Redus	Usoara-medie	Prezente in unele eritrocite:indici normali	
Anemie feripriva in stadiul avansat	Absente	Redus	Severa	Prezente 100% VEM scazut CHEM scazuta	Modificari epiteliale

INCIDENTA DEFICITULUI DE FIER

Deficienta de fier constituie cea mai frecventa stare de denutriţie din orice regiune a globului.

Incidenta anemiei feriprive cunoaşte cele mai mari valori ia nou-născuţi. Indiferent de sex si la femeile gravide.

Deficienta de fier este frecventa intre 6 luni şi 5 ani, cu un varf de incident la 12 luni. Dupa varsta de 3 ani este mai puţin frecventa, dar reprezinta inca o problema de sanatate.

Carenţa de fier a fost intotdeauna mai mare la femei, decăt la bărbaţi, in special in perioada fertila Studiile pe grupe mari de populatie au demonstrat că aproximativ 10%din femei au depozite de fier reduse şi tot 10% prezinta anemie feriprivă. La bărbaţi, incidence deficientei de fier a fost găsită mult mai mică: 4,5 % prezintă stare sideropenică numai 1,5% au anemie feripriva.

CAUZELE DEFICIENTEI DE FIER

Deficienta de fier apare ca o manifestare a unei balante negative a fierului determinată printr-unul sau mai mulji factori: dieta inadecvata, malabsorbtie, pierderi de sange, sarcini repetate (vezi tabelul IV-4 şi gura 4.2).

Cauzele deficiente de fier

- Depozite de fier reduse la nastere (prematuritate, sarcini repetate)
- Alimentatie inadecvata (alimentatie naturala sau artificiala a sugarului fara suplimentare cu fier, dieta vegetariana, lipsa mijloacelor materiale de procuarare a hranei)

-Nevoi crescute de fier (sarcina şi laciatia)

-Malabsorbtie: aclorhidrie, gastrectomie. boala celica

-Hemoragii cronice:

a)uterine: menoragii. metroragii;

b) gastro-intestinale: hernie hiatala, varice esofagiene, ulceraţii pepitice, carcinom gastric, diversicul Meckel, colita ulceroasa, diverticuloza colonica, carcinoid de colon sau de rect, hemoroizi, teleangiectazia ereditara, infectare cu paraziti

c) hematurie recidivanta

-Hemoliza intravasculara cronica cu hemoglobinurie si hemosiderinurie

*La nou-nascuti exista doi factori predispozanti pentru deficienta de fier depozitele reduse ale mamei si alimentajia inadecvate. Deoarece jumatate din depozitele de fier ale fatului se formeaza in ultima luna de sarcina, prematuritatea constituie o cauză importanta a carentei de fier. Laptele matern are, o concentratie scazuta de fier, de aceea este necesară introducerea in alimentatie, in primul an de viata, a unor preparate speciale cu fier (ideal) sau administrarea de fier sub forma de sirop, ca medicament. Deficienta de fier este o complicaţie frecventa a gastrectomiei. La aceşti pacienți, cauza principală a anemiei feriprive este tranzitul intestinal accelerat (sindromul "dumping" al gastrectomizaţilor), cu scăderea disponibilităţii pentru absorbție a fierului și mai putin aclorhidrie consecutivă gastrectomie.

In cazul pierderilor de fier la femei pe primul loc se situează sangerările uterine. Măsurarea pierderii de sânge în cursul menstruaţiei arată că la unele femei este suficient de mare pentru a reduce depozitele de fier. A fost studiat un lot de femei, la care s-a constatat o pierdere medie de 34 ml de sange pentru fiecare menstruaţie. Urmarind figura 4.3 se poate observa că grupul de femei care pierde mai mult de 60 ml la fiecare menstra prezinta o reducere a-valorii hemoglobinei, CHEM şi a sideremiei, în comparaţie cu grupul celor care pierd-cantitipi mai mici.

In timpul sarcinii, cresterea volumului plasmatic depaseste pe cea masei eritrocitare, cu hemodilutie consecutivă şi scăderea valorii hemoglobinei (10-12 g/d).

Cresterea masei eritrocitare necesită un aport de 200-500 mg de fier, in parte contrabalansat prin scăderea excretiei datorita "amenoreei". Caritatea totala de fier necesară mamei in cursul fiecărei sarcini este mare, de ordinul 500-700 mg. Fatul necesită aproximativ 250 mg. iar restul este pierdut prin placenta si prin hemoragie la naştere. De aceea, femeia însărcinată are' nevoie zilnic de 2-3 mg de fier. Necesarul este mult mai mare decât poate fi obţinut printr-o dieta obişnuita, de aceea se impune administrarea suplimentara de fier.
La barbati sangerarea gastro-intestinala este cu certitudine cea mai frecventa cauza a deficientei de fier. Desi orice leziune hemoragica a tractului gastro-intestinal poate determina o anemie feripriva, sangerarile cronice aoculte predomina. Spre exemplu, cancerul de cec este clinic asimptomatic pana la momentul aparitiei anemiei feriprive.

TABLOUL CLINIC AL ANEMIEI FERIPRIVE

Anemia feripriva se dezvolta insiduos si este tolerata bine de pacienti, datorita interventiei mecanismelor adaptative.
Simptomele tributare anemiei sunt de obicei evidente numai cand hemoglobina scade sub 8 g/dl.Oboseala,irtabilitatea,palpitatiile, dispneea, cefaleea si ametelile sunt simptome intalnite in orice tip de anemie si nu sugereazza prin ele insele deficienta de fier.
Disfagia localizata postericoidian(la jonctiunea dintre hipofaringe si esofag) a fost asociata de mult timp cu anemia feripriva. Aproximativ jumatate din pacientii care au o disfagie severa in momentul internarii prezinta anemie hipocroma cu nivele foaret joase ale sideremiei.Acest

simptom este consecinta modificarilor epiteliale datorata sideropeniei.Leziunile cavitatii bucale includ: stomatita angulara(ulceratii si ragade la comisura buzelor), atrofia papilelor linguale cu variate grade de glosita(limba rosie depapilata). Ozena(atrofia cronica a mucoasei nazale insotita de cruste fetide) poate aparea in unele cazuri. La pacientiicu anemie severa modificarile unghiilor sunt caracteristice: unghii friabile,plate,fara luciu, pana la aspectul de unghii in forma de ”lingurita” cu concavitatea in sus(kilonichinie). Asocierea disfagiei, stomatitei angulare si a modificarilor linguale cu anemia feripriva este denumita sindromul Patterson -kelly sau Plummer-Vinson. Un simptom mai deosebit este reprezentat de pervertirea gustului cu ingestia unor substante neobisnuite (practica numita pica). Pacientii prezinta ingestie compulsiva de pamant (geofagie),gheata(pagofagie) creta,etc.
Un semn care trebuie retinut este splenomegalia, prezenta in 10% din cazurile de anemie feripriva cronica severa. Explicatia consta in activarea focarelor de hematopoiezaa, extramedulara din splina, in coditii de hipoxie marcata si de lunga durata.

TESTE DE LABORATOR IN ANEMIA FERIPRIVA

Pe frotiul de sange periferic se constata modificari in raport cu gradul deficientei de fier. Pacientii cu anemie moderata au in stadiul initial indici eritrocitari normali,dar apare anizocitoza. Ulterior, hematiile devin mai mici,scde VEM, care este insotit si de scaderea concentratiei de hemoglobina(CHEM)
In general, la examinarea frotiului de sange periferic se constata hematii palide, hipocrome, cu diametru redus (microcite) sau o mare variatie in dimensiuni (anizocitoza) si in forma (poikilocitoza). O parte din hematii pot avea aspectul de hematii ”in tinta” sau pot fi goale,alungite,denumite in acest caz anulocite.

Hemoglobina are o valoare scăzută în funcție de gradul anemiei. Rezistenta osmotica a eritrocitelor este de obicei crescuta, Numărul absolut de reticulocite este normal, la fel şi numărul de leucocite, dar in stadii avansate pot să scada. Trombecitele sunt crescute in anemiile prin pierdere de sânge dar după o evoluţie indelungata este posibilă apariția unei trombopenii moderate.
Examinarea maduvei osoase nu este in general utila în diagnosticul anemici feriprive. Când este efectuată se constată o hiperplazie a seriei roşii eritrocitare.
Eritroblastii feriprivi sunt grupati in insule de 6-10 elemente şi prezintă o citoplasma caracteristica, foarte densă, cu multe prelungiri, realizand aspectul de eritroblasti cu franjuri". Când se foloseşte coloraţia cu albastru de Prusia (metoda Perls), se observă absenta granulelor de fier din macrofagele maduvei.
Concentraţia plasmatică a fierului este de obicei scazuta sub 50 ug/dl (valori normale: 80-120 ug/dl), Transferina plasmatică este cuantificata in functie de cantitatea de atomi de fier pe care o poate lega, determinându-se in mod curent capacitatea totala de legare a fierului. Cupacitatea totala de legare a fierului (total iron binding capacity -TIBC)este crescută în anemiile feriprive (valori normale 250-400 microgr/dl) si constituie o metoda utila de diagnostic. Erori posibile pot apărea la femeile care folosesc anticonceptionale orale, la care TIBC este crescută.
Saturatia transferinei (raportul dintre valoarea sideremie şi TIBC. exprimat in procente) este un indicator fidel al carentei de fier situatie in care scade sub 15%. Cantitati mici de feritina circula in plasma, unde pot fi detectate printr-un test radioimunologic (RIA). Originea şi rolul feritinei serice sunt necunoscute, dar s-a constatat că nivelul plasmatic se coreleaza direct cu depozitele de fier din organism. Valorile normale sunt cuprinse intre 12 si 325 microg/ml. La persoanele cu deficientă de fier concentratia feritinei scade sub 10 ug/ml. Deşi acest test este mai dificil de efectuat decat determinarea sideremie sau a TIBC, are o valoare mare in diferentierea anemiei feriprive de anemia din bolile cronice, unde feritina este crescută.
Ultima reacţie enzimatică în biosinteza hemului necesita atât fier cât şi protoporfirina. În deficienţa de fier se va acumula in eritrocite protoporfirina in exces, care va fi reţinută şi in hematiile

circulante. Din acest motiv protoporfirina libera eritrocitara (PLE) este crescuta de aproximativ 5 ori fata de nornal (30-80 ug/dl de hematii).
Unii pacienți cu anemie feripriva nu raspund in mod adecvat la tratamentul oral cu fier. La acestia, este necesar să se măsoare absorbtia intestinala, administrârându-se o cantitate mica de fier radioactiv cu determinarea ulterioara a radioactivităţii in materiile fecale. Cantitatea absorbita reprezintă diferenta intre ingestie si exeratie şi normal variază intre – si 30%.In deficienta de fier cantitatea absorbita trebuie sa depăşească 50 %. Pacienții cu anemie feriprivă care nu au absorbție curespunzător crescută (masuratā prin tehnica radioactiva) sufera probabil de malabsorbtie intestinala.
TRATAMENTUL ANEMIEI FERIPRIVE
Metoda terapeutică cea mai sigură şi mai mult utilizată constă in administrarea orală a unor preparate de săruri feroase (clorură, sulfat, gluconat, glutamat,succinat, fumarat). Pentru fiecare preparat este necesară cunoasterea cantităţii de fier elementar (spre exemplu, o tablita de Glubifer contine 23 mg fier, iar o tableta de sulfat feros anhidru 60 mg). Doza zilnică de fier este in medie 100 mg, dar in formele severe de anemie pot fi necesare 150-200 mg.
Tratamentul intr-o anemie feriprivă işi propune să aducă la valori normale concentraţia normale de hemoglobină, dar în acelaşi timp să refacă si depozitele de fier din toate organele.
Când dozele de fier sunt corect administrate se produce o ameliorare rapida a asteniei și dispneei, inainte ca răspunsul hematologic să fie detectat: Criza reliculocitara apare de obicei după zece zile de tratament. Valoarea reliculocitozei și rata de regenerare a hemoglobinei sunt proportionale cu severitatea anemiei. Asıfel, in formele uşoare nu ne putem aştepta la o creștere importantă a reticulocitelor. La două săptămâni după începerea tratamentului hemoglobina creşte cu 2 g/dl, iar după două luni anemia dispare. Pentru refacerea depozitelor de fier este necesară administrarea in continuare a tratamentului pe o perioadă de 4-6 luni, sub controlul feritinei serice. Dacă după administrarea preparatelor cu fier concentraţia hemoglobinei nu creşte corespunzător, trebuie să avem in vedere urmatoarele aspecte:
1.Pacientul nu are incredere in prescriptia medicala şi nu ia medicamehtul.
Aproximativ 1/3 din pacienti incep tratamentul oral, dar pentru că nu remarcă o îmbunătăţire a stării lor generale, il abandonează după câteva zile. Reactiile adverse pot constitui de asemenea motive de intrerupere a tratamentului; arsuri şi dureri epigastrice, constipaţie. Dacă un bolnav nu poate tolera un produs (spre exemplu sulfatul feros), acesta poate fi inlocuit cu un alt compus feros (gluconat).
2. Pacientul are un sindrom de malabsorbtie
3 Există o hemoragie oculta care nu a fost luata in considerare şi care contrabalansează efectele benefice ale tratamentului.
4.Diagnosticul inițial nu a fost corect, fiind vorba de fapt de o deficienta de acid Folic sau de vitamina B
Pacienții cu sindrom de malabsorbţie şi cei care nu pot tolera nici un preparat oral, vor primi fier pe cale parenterală. Se folosesc complexe coloidale neionizate (care nu precipită proteinele) cum ar fier dexranul (Imferon) sau fier sorbitolul (Jectofer) administrate zilnic, in injectii intramusculare profunde, timp de 10 zile. Doza necesară se calculeaza in funcţie de valoarea hemoglobinei. De exemplu, un pacient cu o hemoglobina de 7 g/dl are un volum de hematii de 1000ml(jumatate din valoarea normala). Pentru refacerea volumului eritrocitar trebuie administrata o cantitate de 1000 mg de fier(1 ml de hematii conține 1 mg de fier) şi în continuare, pentru refacerea depozitelor sunt necesare încă 1 000 mg.
Preparatele pentru administrarea intramusculara contin fier legat de carbohidrati. Complexul fier carbohidrati nu se ionizează şi de aceea este relativ puţin loxic. Complexele ajung in circulaţie şi sunt indepărtate şi degradate lent de catre macrofage. Fierul liber este eliberat extravascular şi astfel poate fi captat de celule. Nivelul de creştere a concentrației hemoglobinei este mult mai scăzut decat în cazul preparatelor orale, de aceea fierul parenteral nu trebuie administrat in scopul obtinerii unui răspuns rapid.

Cantitatea totală de fier necesară pentru tratament poate fi administrată şi sub forma de fier dextran intravenos, diluat intr-un volum de substanță salină şi perfuzat timp de 8-10 ore. Preparatele injectabile de fier trebuie folosite cu mult prudenta. din cauza riscului de reactii anafilactice severe, care deşi sunt rare, pot fi mortale. In cazul administrarii intramusculare poate să apară o adenopatie inghinală reactivă.
S-a arătat că în timpul sarcinii depozitele de fier sunt absente sau mult reduse, dar exista controverse dacă trebuie administrate preparate orale de fier in utimul trimestru de sarcină la toate gravidele sau numai la acelea cu o hemoglobină mai mică de 11 g/dl. Argumentul principal împotriva administrarii este acela că aceasta prescriptie poate masca o anemie prin deficienta de acid folic, care, nerecunoscuta la timp. poate să aibă o evoluţie mai severă. Administrarea parenterală de fier, la interval de 2 zile, pe o perioadă de maximum 10 zile, este indicată la gravidele in ultimul trimestru care au o valoare a hemoglobinei de 7-8 g/dl sau la cele care din motive de sănătate a fătului, trebuie să suporte o operaţie cezariană imedinta

ANEMIA DIN BOLILE CRONICE
O anemie moderată insoteşte freevent infecţiile cronice (tuberculoza.osteomielita, abcesul pulmonar, endocardita bacteriana subacută, pielonefrita), bolile inflamatorii (poliartrita reumatoida, vasculite, LES, boala Crohn) şi neoplazice.
Datele caracteristice sunt următoarele:
1) O anemie moderată, cu hematii obişnuit normocrome, normocitare, dar care pot fi şi hipocrome, microcitare.
2) O concentratie redusă a fierului scric, cu o capacitate de legare a fierului normal sau redusă, cu o saturare a transferinci micşorată, cu o cantitate normala sau crescută a feritinei serice. Specifice pentru aceasta depozitele de fier crescute.
Anemia apare în primele două luni de boală şi se stabilizeaza apoi la nivele aproape constante. Obligatoriu, anemia din bolile cronice trebuie diferentiata de celelalte forme de anemii hipocrome (vezi tabelul IV-5).
Diagnosticul diferential al unei anemii hipocrome

Testul	Anemia feripriva	Talasemia	Anemia din bolile cronice	Anemia sideroblastica
Sideremia	Scazuta	Normala	Scazuta	Crescuta
TIBC	Crescuta	Normala	Scazuta	Normala
Feritina serica	Scazuta	Normala	Crescuta	Crescuta
PLE	Crescuta	Normala	Crescuta	Normala sau crescuta
HbA	Scazuta	Crescuta	Normala	Scazuta

Cauzele anemiei din bolile cronice nu sunt foarte bine cunoscute, dar au fost implicati urmatorii factori:
1) Sechestrarea fierului in macrofage, cu împiedicarea eliberării sale in procesul de formare a hemoglobinei.
2) Lipsa de raspuns medular datorită scaderii eritropoietinei (în condiţii de hipoxie bolnavii işi corectează putin anemia).
3) O reducere moderată a duratei de viață a hematiilor, datorită unor factori extracorpusculari.
4) O inhibitie a celulei precursoare eritroide, in procesul de proliferare şi maturare, datorită unui factor seric sau a unui produs al macrofagelor din maduva osoasă (spre exemplu in poliartrita reumatoida).
Corectia anemiei depinde de succesul terapeutic al bolii de bază. Se poate administra eritropoietina.

ANEMIILE SIDEROBLASTICE

Anemiile sideroblastice sunt un grup heterogen de boli, asociate cu variate defecte in biosinteza porfirinelor, care conduc la diminuarea producerii hemului şi la creşterea captării celulare a fierului. Anemiile sideroblastice se caracterizează prin prezenta în măduva osoasă a unui precursor eritroid anormal, denumit sideroblast inelar. Sideroblastii inelari sunt normoblasti, care prezinta perinuclear un inel gros de granule cu fier, evidentiate cu albastru de Prusia. Studiile de ultrastructura au arătat că aceste granule perinecleare sunt alcatuite din mitocondrii, intre cristalele cărora este depozitat fier.
Anornaliile in sinteza porfirinelor sunt insoţite de creşterea depozitelor de fier din organism, de creşterea sideremiei până la saturarea completă a transferinei şi de o eritropoieza ineficienta.
Clasificarea anemiilor sideroblastice este prezentata in tabelul IV-6.

1.Anemii sideroblastice ereditare sau congenitale
2.Anemii sideroblastice dobandite
A. Asociate cu medicamente si toxine:alcool,plumb,izoniazide,,Cloramfenicol
B.Asociate cu boli inflamatorii si neoplazii: poliartrita reumatoida,leucemii, limfoame, carcinoame
C.Chimioterapia cu agenti alchilanti (ciclofosfamida)
D.Idiopatice

Anemia sideroblastica ereditara afectează aproape intotdeauna sexul masculin, avand o transmitere de tip recesiv, legata de cromozomul X. Defectul este la nivelul interacţiunii sintetazei acidului delta-aminolevulinic cu piridoxal fosfatul. Anemia este de obicei severă şi este corectată parţial prin administrarea unor doze mari de vitamina B.

De cele mai multe ori, anemia sideroblastică dobândită este idiopatica si apare de obicei la oamenii vârstnici. Este asociată cu anomalii cromozomiale, eventual cu neutropenie şi trombocitopenie. La examinarea frotiului de sânge periferic se constă două populaţii de eritrocite: una hipocroma şi microcitara, iar cealalta macrocitara. Splenomegalia este prezenta in 30-40 % din cazuri. Anemia este refractara la vitamina B6. Durata medie de supravieţuire a pacienţilor este de 10 ani. In 10 % din cazuri se transforma in leucemie acută. Mai nou, in tratamentul acestor bolnavi au fost introduse: eritropoietina, factori de stimulare a coloniilor pentru macrofage şi granulocite (GM-CSF), interleukina 3 (IL-3).
Anemia sideroblastică dobândită poate fi secundară unui consum excesiv de alcool, unor medicamente sau unei intoxicatii cu plumb. În aceste cazuri anemia este de obicei moderată. Bolile inflamatorii, cum ar fi poliartrita reumatoida, neoplaziile, precum şi o varietate de anomalii primare hematologice pot fi asociate cu o anemie sideroblastică. Tratamentul şi prognosticul depind de natura bolii de bază.

Capitolul 5
ANEMIILE HEMOLITICE
DEFINITIE

Anemiile hemolitice constituie un grup de afecțiuni congenitale sau dobândite care au drept caracteristică comună scurtarea duratei de viaţă a hematiilor.

Trebuie menţionat de la început că nu toate stările hemolitice sunt insotite de anemie (scăderea hemoglobinei şi a hematocritului). Cand exista o reducere moderata a duratei de viaţă a hematiilor (de exemplu, 30 zile în loc de 120 zile), măduva osoasă este capabilă să crească de 6-8 ori producția de eritrocite prin simularea precursorilor de catre eritropoietina. In aceste cazuri, hemoliza este considerata compensată.

În majoritalea anemiilor hemolitice, celulele sistemului monocit-macrofag din ficat, splină, măduvă osoasă indeparteaza hematiile anormale din circulaţie, prin fagocitoză, realizand tabloul clinic de hemoliză extravasculara.

Intr-un număr mai mic de cazuri, procesul de hemoliza se produce intravascular, când hematiile sunt lizate şi eliberează hemoglobina.

In stările hemolitice cronice există un consum permanent de acid folic şi vitamina B, (biocatalizatori naturali ai tesutului hematopoietic), epuizarea lor ducând la reducerea numarului de eritroblasti din maduva - "eritroblastopenie" pasagera.

Ca urmare se produce o scadere tranzitorie a numărului de hematii din sângele periferic şi a cantităţii de hemoglobină intr-un mod disproportionat fata de gradul moderat al hemolizei de fond.

De asemenea, eritropoieza ar putea fi: influenţată dacă precursorii seriei roşii sunt lezati (uncori de agentul care a cauzat hemoliza) sau când măduva este infiltrată cu celule maligne (de exemplu - leucemia limfatică cronică complicata cu anemie hemolitica autoimuna).

EVALUAREA HEMOLIZEI

Deoarece hemoliza este obişnuit asociată cu o creştere a eritropoiezei, există două categorii de date de laborator utile in investigarea acestor pacienţi (vezi tabelul V-1).

a) date care evidentiază o distructie crescută a hematiilor;

b) date care evidențiază o activitate eritropoietică compensatorie crescuta.

De menţionat că semnele din prima categorie pot fi grupate în funcţie de locul predominant de desfăşurare al procesului hemolitic.

Evaluarea hemolizei **Tabelul V-I**

A) DATE DE LABORATOR CARE EVIDENŢIAZĂ DISTRUCŢIA CRESCUTĂ A HEMATIILOR		
Date de laborator	**Hemoliza extravasculara**	**Hemoliza intravasculara**
a) Singe		
Bilirubinemie indirecta		
Haptoglobina		
Hemopexina	Normala sau	
Methemalbuminemie	Absenta	Prezenta
Hemoglobinemie	Absenta	Prezenta
Lactic-dehidrogenaza		
b) Urina		
Urobilinogen		
Hemoglobinurie	Absenta	Prezenta
Hemosiderinurie	Absenta	Prezenta
c) Fecale		
Stercobilinogen		
B) DATE CARE EVIDENŢIAZĂ ACTIVITATEA ERITROPOIETICA CRESCUTĂ		
a) Sange		
Reticulocitoza (hematii policromatofile)		
Macrocitoza		
Eritroblastoza		

Leucocitoza
Trombocitoza

b) Maduva osoasa

Hiperplazia seriei eritrocitare

c) Date suplimentare

Cresterea turnover-ului plasmatic al fierului
Cresterea turnover-ului fierului in eritrocite

CONSECINŢELE BIOCHIMICE ALE HEMOLIZEI EXTRAVASCULARE

Metoda cea mai şimpla de evidentiere a distructiei eritrocitare crescute consta in determinarea nivelului bilirubinei şi derivaţilor sai in plasma, urina si materii fecale.

Ca urmare a distrugerii tisulare a hematiilor de către sistemul monocit-macrofag, rezulta bilirubina indirecta, neconjugata. Datorita insolubilitatii in apa, bilirubina indirectă va fi legata de albumina plasmatică şi transportată astfel la ficat. La acest nivel are loc conjugarea bilirubinei cu formarea compusului direct excretat prin căile biliare in intestin. Sub actiunea florei bacteriene din ileonul terminal şi colon, bilirubina conjugată este convertita in urobilinogen:

Un procent de 10-20 din urobilinogen este reabsorbit şi intră in circuitul hepato-entero-hepatic, iar o cantitate mică filtrează glomerular cu apariţia în urină. Cantitatea rămasă in intestin va fi excretată in materiile fecale sub forma de stercobilinogen.

Ficatul sanatos are capacitatea de a prelua şi conjuga o cantitate crescută de bilirubină in stările de hemoliza. Totuşi, există o anumită limită in procesul de conjugare a bilirubinei, care, dacă este depăşitā, va determina cresterea nivelului plasmatic al bilirubinei indirecte.

Când există o rata excesivă de distructie a hematiilor, cantitatea de urobilinogen din fecale este crescută, iar acestea au o culoare mai inchisa (valorile normale pentru urobilinogen din fecale sunt 40-280 mg/zi). In paralel cu creşterea urobilinogenului fecal are loc și creşterea urobilinogenului excretat in urina.

Detectarea se face cu ajutorul reactiei Ehrlich.

Trebuie menționat că determinarea stercobilinogenului este un test important pentru procesele de hemoliză care nu sunt insotite initial de creşterea nivelului plasmatic al bilirubinei indirecte.

Cu ajutorul glicinei marcate radioactiv s-a dovedit că in urma catabolismului hemului rezultă pe lângă bilirubina "clasica", un compus numit pigment "timpuriu" sau bilirubina de "şunt", a cărui determinare are valoare in descoperirea eritropoiezei ineficiente când celelalte teste sunt normale şi care apare precoce in stercobilinogen.

CONSECINTELE BIOCHIMICE ALE HEMOLIZEI INTRAVASCULARE

Hemoglobina eliberată prin liza intravasculară a hematiilor este legată de o proteină specifică denumită haptoglobină. Deoarece complexele hemoglobina-haptoglobină sunt rapid captate de celulele din sistemul monocit-macrofag, hemoliza intravasculară conduce la o reducere a nivelului de haptoglobina.

Nivelul de haptoglobina serică poate să scada si in cazul hemolizei extravasculare, când o parte din hemoglobina "scapă", deci macrofagele care au sechestrat şi lizat hematile. Când cantitatea de hemoglobină eliberata in cursul hemolizei intravasculare depaşeşte capacitatea de legare a haptoglobinei, vom gasi hemoglobina libera in plasma.

Hemul este eliberat din hemoglobină şi este rapid oxidat în hematină, care va fi legată iniţial de o proteină plasmatică specifică, hemopexina. Complexele hem-hemopexină vor fi eliminate din circulatie de către hepatocite.

După ce moleculele de hemopexina sunt saturate, hematina se leagă de albumina pentru a forma methemalbumina care poate fi detectată prin testul Schumm. Când hemoglobinemia este prezentă, o parte din hemoglobina libera se disociază în dimeri care pot trece prin filtrul glomerular renal, cauzând hemoglobinuria.

O parte din dimeri sunt prelucraţi de celulele tubulare renale şi depozitati in aceste celule, ca hemosiderina. Hemosiderina ar putea fi detectata in sedimentul urinar, atât de celulele tubulare care s-au descuamat, cât şi extracelular.

ASPECTELE MORFOLOGICE ALE HEMOLIZEI

O examinare atentă a frotiului de sânge periferic constituie elementul esențial in diagnosticul anumitor forme de anemie hemolitică prin descoperirea de hematii anormale, cum ar fi: microsferocitele, ovalocitele, stomatocitele, schizocitele (fragmente de hematii), hematii "in secera" (cele din hemoglobinopatia S) - hematii crenelate (din anemia microangiopatică) care conţin paraziţi şi hematiile “in tinta", care alături de cele hipocrome constituie marker-al morfologic pentru sindroamele talasemice.

REDUCEREA DURATEI DE VIAȚĂ A HEMATIILOR

Cea mai bună dovadă că hematiile au o durata de viaţă scurtată este marcarea lor cu ^{51}Cr, si reinjectarea lor la un pacient. Durata de viață a hematiilor poate fi apoi urmărită prin: recoltarea de probe de sange la anumite intervale de timp şi masurarea radioactivitatii.

Folosirea de ^{51}Cr, marker pentru hematii, are avantajul că se poate obține o indicație asupra locului principal de distrucție al hematiilor.

^{51}Cr emite raze care penetrează prin tesuturi şi de aceea ^{51}Cr depozitat in splină sau ficat poate fi detectat prin plasarea unui detector de raze pe suprafata corpului la nivelul acestor organe.

Experienţa a aratat că atunci când acumularea de ^{51}Cr predomina in splina, in anemiile hemolitice, splenectomia este obişnuit urmata de o vindecare parțială sau totală a procesului hemolitic (fig. 5.1).

ASPECTELE CLINICE ALE STĂRILOR HEMOLITICE

Simptomatologia este nespecifica si poate include: astenie fizica şi psihica, dispnee, palpitații, dureri precordiale.

Simptomele variaza in funcţie de vârstă şi de severitatea anemiei.

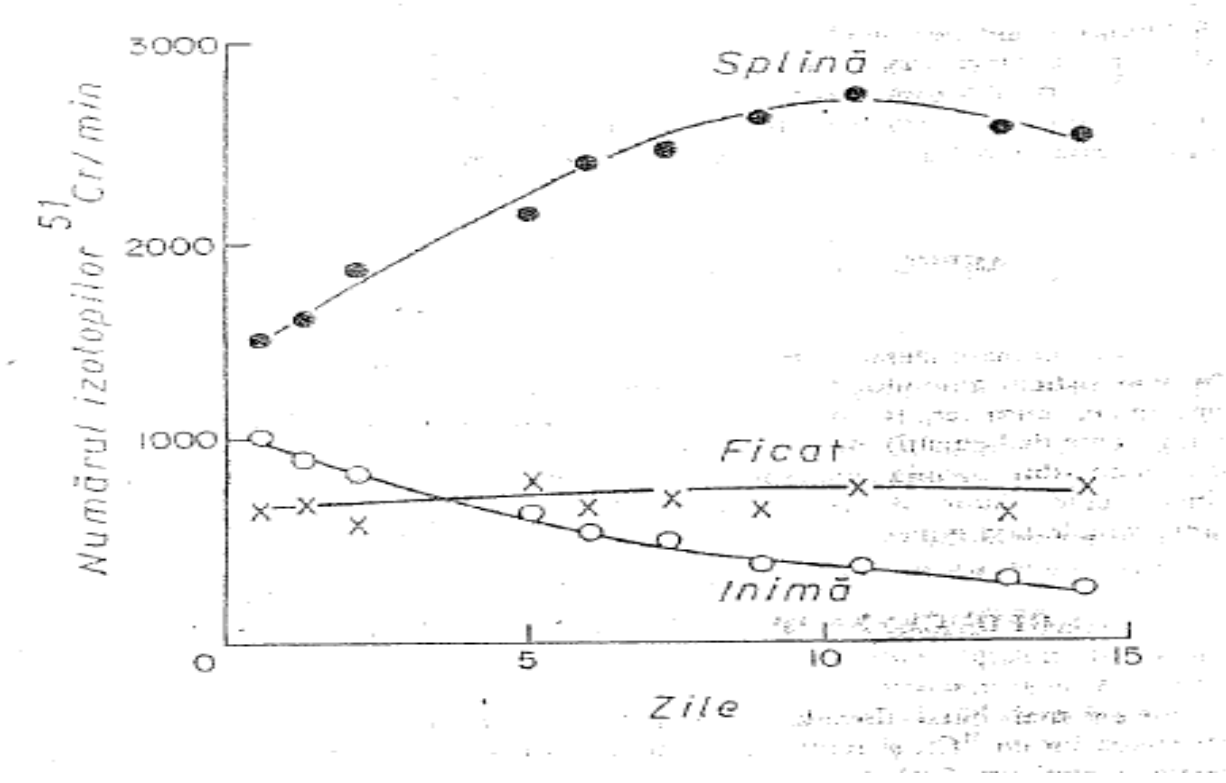


Fig. 5.1 - Acumularea excesiva a ^{51}Cr in splina, comparativ cu cea din ficat şi inima, intr-o anemie hemolitică autoimună idiopatică.

La examenul fizic se constată urmatoarele semne: paloare, icter sclero tegumentar moderat, ulcere maleolare, deformaţii osoase, splenomegalie - în majoritatea cazurilor. Deformațiile osoase sunt caracteristice pentru anemiile hemolitice congenitale severe şi apar ca urmare a expansiunii tesutului eritropoietic in medulara oaselor frontale, parietale şi maxilare.

Foarte rar se constata fracturi patologice. Anomaliile osoase se pot exprima radiologic dand aspecte caracteristice: calota "păroasă" sau in formele severe craniu "în turn".

La pacienţii cu anemie hemolitică (in special in formele congenitale) s-a constatat o frecvenţă crescută a litiazei biliare, care, pe lângă simptomalologia caracteristică poate accentua iclerul.

Crizele aplastice (eritroblastopenie pasagera)

Evolutia anemiilor hemolitice cronice se poate complica cu episoade de aplazie pură a seriei eritrocitare, care dureaza in mod obişnuit şapte zile.

In maduva osoasă dispar eritroblastii, numărul absolut de reticulocite se reduce foarte mult, iar hemoglobina scade rapid. Aceste crize sunt declanşate de infecţii cu germeni gram negativi, sau cu parvovirusuri.

Anemie	**Hemolitica**	**Congenitala / Dobandita**
Hb	- reticulocite	- frotiu
Hl	directa+	- electroforeza Hb
	- bilirubinemie	- corpi Heinz
	indirecta++	- determinarea enzimelor eritrocitare (G6-P-D)
	- culoarea icterica a serului in tubul de VSH	- testul de autohemoliza
	- haptoglobina	- rezistenta osmotica
	- hemopexina	a hematiei
	- stercobolonogen fecal +++	
	Semne indirecte:	- testul Coombs: direct
	- leucocitoza	indirect
	- trombocitoza	- anticorpi bifazici Donath - Landsteiner
	- maduva osoasa hiperplazica	- aglutinine la rece, testul Horn
	- hepatosplenomegalie	- testul sucroza

Fig. 5.2 - Schema generala de investigaţie a unei anemii hemolitice

Aspectul clinic este atat de sever incat la prima examinare clinica, diagnosticul poate fi de leucemie acută.

Odată recunoscută această complicaţie, pacienţii trebuie transfuzati de urgenta cu masa eritrocitara.

SINTEZA DATELOR CLINICE ŞI DE LABORATOR

Informaţiile obtinute din anamneza, examenul fizic şi testele de laborator sunt prezentate intr-o forma sintetica in schema din figura 5.2.

DIAGNOSTICUL DIFERENTIAL AL ANEMIILOR HEMOLITICE

Este prezentat in tabelul V-2.

Diagnosticul diferenţial al anemiilor hemolitice Tabelul V-2

A) Afectiuni asociate cu anemie si reticulocitoza
1. Hemoragii
2. Reticulocitoza ca raspuns la tratamentul cu fier, vitamina B_{12}, si acid folic
B) Afectiuni asociate cu anemie si icter
1. Eritropoieza ineficienta din anemiile megaloblastice
2. Sangerarea in cavitati inchise sau tesuturi (icterul de resorbtie)
C) Mioglobinurie (traumatisme cu distructii musculare)

PATOGENIA ŞI CLASIFICAREA ANEMIILOR HEMOLITICE

Mecanismele patogenice generale în anemiile hemolitice sunt reprezentate de:

1. distructia mecanică a eritrocitelor; anemia hemolitica microangiopatica;
2. liza hematiilor printr-un mecanism:
   - osmotic (sferocitoza ereditară);
   - imun (anemii hemolitice autoimune);
   - toxic, direct: paraziti, bacterii, medicamente, agenți fizici (Q, Rad);
3. filtrarea, sechestrarea şi liza hematiilor cu defect în sistemul monocit-macrofag (splină).

Defectul poate fi la nivelul:

-membranei eritrocitare;
- hemoglobinei
- enzimelor.

După locul de producere al hemolizei, anemiile hemolitice pot fi clasificate in intravasculare şi extravasculare - cele două forme recunoscând manifestări clinice şi de laborator distincte.

De asemenea are o mare importanjă clasificarea în anemii hemolitice congenitale şi dobândite, care diferă fundamental din punct de vedere al mecanismului patogenic.

Vom prezenta in continuare cele mai frecvente forme de anemii hemolitice întâlnite în practica medicala.

ANEMII HEMOLITICE CONGENITALE

DEFECTE ALE MEMBRANEI HEMATIEI

Membrana hematiei are o structură clasică de bistrat, care este ataşată la citoschelet celular. Acesta este compus din 4 proteine specifice principale: spectrina, actina, proteina 4.1 si ankirina. Acest citoschelet pare a fi foarte important in mentinerea formei normale, biconcave a hematiei.

Sferocitoza ereditara

Sferocitoza ereditară este tipul cel mai comun al anemiilor hemolitice datorate unui defect de membrana. Datele recente indica la mulți bolnavi existența unei reduceri a continutului in spectrină şi a unui defect in interacţiunea dintre spectrina și proteina 4.1 (Agre, 1986).

Această anomalie pare a fi cauza modificărilor care apar in hematiile mai "batrane". Repetatele treceri prin microcirculaţia splinei agravează defectul eritrocitar prin pierderea unor porţiuni din membrana.

Astfel, hematiile care dobândesc aspectul de microsferocite vor avea o suprafaţă de membrană mult mai mică raportată la volumul normal de hemoglobina.

Sferocitele devin mult mai puțin deformabile decat hematiile normale şi de aceea ele vor fi reţinute la un pasaj splenic, la nivelul cordoanelor Billroth. Odata fixate in pulpa roşie a splinei, vor fi sechestrate de macrofagele locale, ceca ce duce la scurtarea duratei de viaţă a hematiilor.

Incidenţa sferocitozei ereditare este estimată, în special, pentru regiunile nordice ale Europei, ca fiind 2-3 cazuri la 10 000 de indivizi sănătoşi. Boala se transmite după un model autosomal dominant.

Din antecedentele heredocolaterale se poate reţine că una sau mai multe persoane din familia pacientului sunt cunoscute cu sferocitoză ereditară, cu episoade recurente de anemie hemolitică, cu litiaza biliară sau chiar cu splenectomie.

Boala se poate manifesta la orice vârstă, de la nastere pana la bătrâneţe, deşi, obişnuit este descoperit la adultul tânăr sau de vârstă medie (20-40 ani).

Există o mare diversitate in aspectul clinic, care poate varia de la o anemie severă cu hemoglobina 4-5 g % și până la forme asimptomatice in care valoarea hemoglobinei este normală şi diagnosticul este pus intamplator printr-o examinare atentă a frotiului de sânge periferic.

La pacienţii cu sferocitoză ereditară, pe langă o anemie medie se constata o splenomegalie moderată sau, uneori, numai o splină percutabilă. Cei mai mulți bolnavi, pe parcursul bolii, prezintă o litiază biliară, dar numai 10-20% dintre ei dezvoltă semnele unei colecistite acute litiazice sau ale unui icter colestatic.

Proportia de distrucție a eritrocitelor, la un pacient oarecare, ramane destul de constanta pe parcursul vieții, dar există şi episoade mai severe de hemoliza, când bolnavul devine anemic, icteric, palid, cu crize abdominale.

Crizele de aplazie sau hipoplazie pot să apară temporar şi sunt caracterizate printr-o scadere brutală a valorii hemoglobinei cu o reducere in paralel a numarului de reticulocite. Aceste crize de hipoplazie sau aplazie - "crize de eritroblastopenie pasageră" - sunt deseori precedate de boli febrile infectioase obişnuite (infectii biliare cu Escherichia coli), pneumonii bacteriene sau infecții ale progenitorilor eritroblastici cu parvovirusul B_{19}.

Pacienţii cu sferocitoza ereditară se pot prezenta, uneori, la primul consult medical cu ocazia unei astfel de crize severe de hemoliză urmată de o criza de hipoplazie sau aplazie a eritroblaştilor medulari (criza de eritroblastopenie pasagera).

În sferocitoza pasageră putem intalni tabloul clinic de anemie megaloblastica prin deficienta de acid folic - aspect comun pentru anemiile hemolitice congenitale. Acesta este rezultatul consumului crescut de acid folic (biocatalizator universal) - ca urmare a eritropoiezei accelerate. Lipsa de acid folic poate fi accentuata cand există un aport alimentar inadecvat.

Diagnosticul. Datele clinice cele mai importante sunt antecedentele heredocolaterale (familiale), icterul de intensitate medie (pacientul este mai mult palid decat icteric), paloarea şi splenomegalia de grade variate.

Examinarea frotiului de sange periferic este doua etapă importantă in diagnostic, cand se constata prezenta sferocitelor intr-un procent de peste 50.

Sferocitele au talie mai mică decât hematiile normale şi sunt mai intens colorate (nu se pot confunda cu reticulocitele, care sunt policromatofile şi mai mari decât hematiile prezente pe frotiu).

Datele de laborator indica o hemoliza extravasculara. Sferocitele au un VEM normal sau uşor scăzut, în timp ce CHEM este crescută, astfel că suprafata membranara pe unitatea de volum este redusă. Din acest motiv sferocitele sunt rapid lizate intr-un mediu salin hipoton, prin mecanism osmotic.

Acest defect intrinsec al sferocitului poate fi evidentiat prin testul de fragilitate osmotică. Pentru hematiile normale, liza incepe să se producă atunci când concentraţia salină este redusă sub 0,55 g/dl. Sferocitele având o plasticitate redusa, se vor umfla si se vor sparge rapid când sunt introduse in solutii saline cu concentrația 0,6-0,8 g/dl.

Testul de autohemoliza explorează aceeaşi fragilitate osmotica, dar prezintă avantajul unei tehnici mai simple.

Se incubeaza steril, la 37^0C sânge integral, timp de 24 ore. In sferocitoza ereditară, 10-20 % din hematii vor fi lizate in comparatie cu procentul de 4, cand hematiile sunt normale. Autohemoliza poate fi prevenită prin administrarea de glucoză, înaintea incubării sângelui.

Tratamentul. Consta in supravegherea pacienților, precum si administrarea permanentă de acid folic şi coleretice. Splenectomia nu este indicată sub vârsta de 5 ani, datorită riscului mare de infecţii letale, in special cu pneumococ; astfel că : dacă este posibil - va fi temporizată până la vârsta de 5-10 ani şi chiar peste această vârsta.

Indicatiile splenectomiei:

- forma medie/severa de sferocitoză ereditară;
- splenomegalie cu fenomene de compresie mecanică;
- splenomegalie uşoară dar cu numeroase infarcte splenice insotite de dureri permanente.

După splenectomie, valoarea hemoglobinei creşte, dispare icterul, creşte durata medie de viaţă a hematiilor, dar sferocitele persista pe frotiul de sange periferic şi chiar intr-un procent mai mare. Alaturi de sferocite se descriu un numar mai mic de normoblaşti şi hematii cu corpusculi Howell-Jolly.

Eliptocitoza ereditara

Această anemie hemolitică ereditară afectează 4 din 10 000 de adulti sănătoşi: este transmisă după modelul autosomal dominant.

Caracteristic, 25-90 % din hematii sunt ovale, eliptice. Pacientii heterozigoti nu sunt anemici şi prezinta o stare de hemoliza compensata.

Homozigofii au de obicei o anemie severă din prima perioadă de viață. Defectul primar este la nivelul citoscheletului. Multi pacienti prezintă variate mutatii afectand spectrina sau proteina 4.1. Uneori, proteina 4.1 poate fi chiar absenta.

ANOMALII ALE ENZIMELOR ERITROCITARE

Hematiile posedă capacitatea de a se autoproteja faţă de acţiunea nociva a agenţilor oxidanţi, datorită existenţei şi funcţionării optime a suntului pentozo-monofosfatilor (vezi fig. 5.3).

Cand eritrocitele sunt expuse la un medicament sau o toxină, cantitatea de glucoză metabolizată pe calea şuntului pentozo-monofosfatilor creşte de cateva ori. Asıfel, glutationul redus este regenerat şi împiedică oxidarea grupărilor sulfhidrice din structura hemoglobinei.

Când există un defect ereditar al enzimelor implicate in aceasta cale metabolică, nu poate fi menţinut in hematii un nivel adecvat de glutation redus (GSH). Ca urmare, grupările sulfhidrice ale hemoglobinei se oxideaza, iar hemoglobina tinde să precipite intracelular formand corpii Heinz.

Dintre defectele congenitale ale şuntului pentozo-monofosfatilor - cea mai frecvent întâlnită este deficienta de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază.

Deficienţa de glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza

Se apreciază că ar exista mai multe milioane de oameni in lume cu o deficienţă de glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza. Gena defectivă este prezentă pe cromozomul X şi de aceea aspectele clinice ale acestei deficienţe sunt exprimate la bărbaţi (XY).

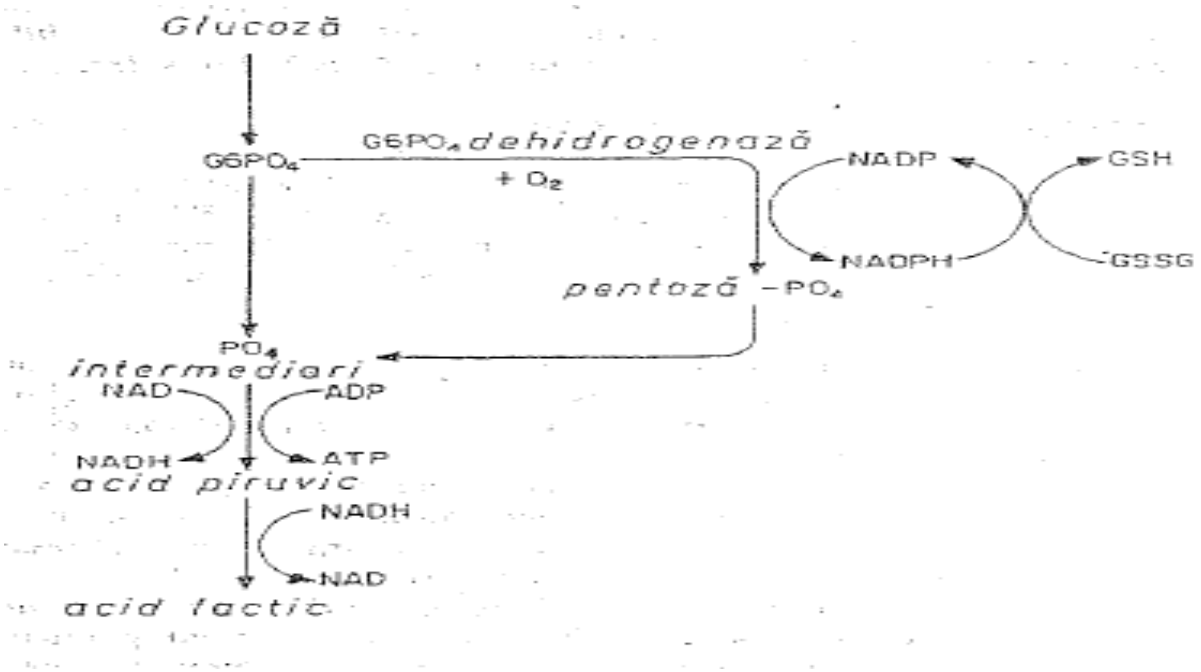


Fig: 5.3 Căile de metabolizare a glucozei in eritrocit.

Femeile homozigote (XX) sunt, de asemenea, simptomatice, dar numărul lor este mic. Obişnuit, cromozomul X normal la femeile heterozigote (XX) menține o activitate suficientă a glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei (G6PD), cu absenta manifestărilor clinice de anemie hemolitică. Deficienţa de glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G6PD) ofera o oarecare protecţie pentru femeile heterozigote, impotriva parazitului Plasmodium falciparum.

Astfel, în zonele endemice pentru acest parazit, femeile cu malarie, heterozigote pentru G6PD, au un număr mai mic de paraziti decât persoanele normale. Deficienta acestei enzime intraeritrocitare este diferită in functie de regiunile geografice.

Au fost separate electroforetic şi descrise peste 250 variante de G6PD. Tipul normal de enzimă (tipul sălbatic") este denumit B. Un procent de 20 din populaţia de culoare din America are tipul enzimatic A+, care diferă electroforetic de tipul B, dar este normal functional.

In Africa, cel mai comun tip este A-, în care activitatea enzimei G6PD este redusa cu 10 % faţă de cea normala. Alte variante importante mai sunt: cea intalnita în bazinul mediteranean şi o altă variantă în China.

Deficienta de G6PD conduce la scăderea nivelului de NADPH şi GSH - compuşi, care, in mod normal, impiedică oxidarea hemoglobinei atunci când se administrează medicamente sau substante oxidante. Hemoglobina precipită intracelular (cea oxidata) şi va forma corpi Heinz. Cand hematiile cu corpi Heinz ajung în microcirculația splenica - corpii Heinz vor fi extraşi de macrofagele splenice. Eritrocitele lipsite de aceste incluzii citoplasmatice sunt celule bine colorate, dar care prezintă la periferie zone „amputate". Acestea vor suferi un proces de hemoliză extravasculara.

Uneori, sunt supuse oxidarii şi componentele membranei eritrocitare, rezultatul fiind o hemoliza intravasculara.

Există o serie de teste screening, folosite pentru detectarea deficienţei de G6PD. Toate se bazează pe determinarea productiei de NADPH in hematie in prezenta unui exces de glucozo-fosfat. In continuare, vor fi menţionate cateva sindroame clinice asociate cu diferite variante de G6PD, care prezinta o activitate enzimatica redusa.

1) Episoadele acute de hemoliză. Pacienţii cu tipul (A-) de G6PD cât şi cei care prezinta varianta mediteraneana sunt asimptomatici şi au o valoare normala a hemoglobinei in afara crizelor hemolitice. Totusi, masurarea duratei de viaţa a hematiilor indică o uşoară reducere a acesteia.

Episoadele de anemie hemolitică sunt declanşate de infecţii şi de expunerea la medicamente sau substante oxidante. Medicamentele implicate in aceste evenimente hemolitice sunt numeroase: antimalarice (primaquina), sulfonamide, analgezice (aspirina in doze mari, fenacetina), analogii vitaminei K.

Anemia atinge momentul critic la 7-10 zile de la administrarea medicamentului. Severitatea hemolizei depinde atat de gradul de reducere a activităţii enzimatice, cât şi de natura şi cantitatea medicamentului. Chiar dacă medicamentul continua sa fie administrat, după 10 zile, procesul hemolitic se autolizeaza, iar hemoglobina revine la valorile normale. Fenomenul este explicat de faptul că medicamentul afectează şi distruge numai hematiile mai bătrâne, care au nivelele cele mai scazute G6PD.

Eritrocitele tinere care le vor inlocui pe cele distruse vor avea o cantitate de G6PD suficientă pentru a asigura protectia impotriva agentului oxidant.

2) Icterul neonatal. La unii nou-nascuţi, cu deficienta de G6PD din Grecia, Italia, Tailanda şi China s-a constatat o hiperbilirubinemie, care a necesitat uneori exsanguinotransfuzia. Aceşti pacienţi işi revin după perioada neonatala, dar pot prezenta in viitor episoade acute de hemoliza, in condiţiile prezentate mai sus.

3) Anemia hemolitică congenitala nesferocitară. Foarte rar, reducerea activităţii G6PD este atat de importanta încât pacienţii prezintă în mod constant hemoliza şi anemie pe parcursul vieţii.

4) Favismul. Favismul, cunoscut de aproximativ 2000 de ani, este astăzi cosiderat o anemie hemolitica acuta, care apare la pacientii cu deficit de G6PD (de obicei la tipul mediteranean) și cu sensibilitate la o specie de fasole (Vicia fava).

Procesul hemolitic este declanşat de ingestia boabelor, dar uneori, este suficientă numai inhalarea polenului acestor plante (mai ales la copii).

Anemia severă se dezvoltă rapid şi deseori este acompaniată de hemoglobinurie. Baza biochimica a sensibilitatii la boabele de fava,nu a fost insa identificata; de obicei, favismul afecteaza doar parte din membrii unei famiii cu deficienta de G6PD - lasandu-i indemni pe ceilalti.

Tratamentul. Deoarece la pacienţii cu deficienta in G6PD tipul A- hemoliza este de obicei autolimitata - nu este necesar un tratament specific. Splenectomia este discutabila in varianta mediteraneana cu hemoliza cronica. Transfuziile de sange sunt rar indicate. Cea mai mare atenţie trebuie acordata prevenirii episoadelor hemolitice. Pacienţii trebuie informaţi asupra riscului administrarii de agenti oxidanti.

ANOMALII ALE STRUCTURII SAU SINTEZEI DE HEMOGLOBINA

Molecula de hemoglobina la fat și în viața postnatală este compusa din 4 lanturi de polipeptide: 2 lanturi alfa şi 2 lanturi non alfa, care se combina pentru a forma o proteina globulara - globina. Fiecare lant de globina este asociat cu o singură grupare hem care se poate lega reversibil de oxigen.

Cea mai mare parte din hemoglobina, la adultul normal, este denumita hemoglobina A1 (HbA_1), care contine doua lanjuri alfa şi doua lanturi beta. Formula hemoglobinei A1 este $\alpha_2\beta_1$. La adult este prezenta şi hemoglobina $A_2(\alpha_2\delta_2)$ in procent de 1,5-3,5 cat si cea fetala (F) in procent de 1 şi care este alcalino rezistenta (a_2g_2).

HbA_1	95,5 - 97,5 %	HbA_1
HbA_2	1,5 - 3,5 %	HbA_2
HbF	1%	HbF

Anomaliile congenitale ale hemoglobinei sunt imparţite in doua categorii principale:

1. Hemoglobinopatii prin modificări structurale ale hemoglobinei, in care există o alterare in secventa de aminoacizi la nivelul unui lant al globinei, fără o reducere in rata de sinteză a lanțului anormal.

2. Hemoglobinopatii prin modificări cantitative, in care exista o sinteză redusă a lanturilor din compozitia hemoglobinei. Prototipul acestei hemoglobinopatii congenitale cantitative il constituie sindromul talasemic. In acest caz, există o reducere a sintezei unuia din lanturile globinei.

In toate lanturile de globină, secvenţa de aminoacizi este normala. Totuşi, in cadrul sindroamelor talasemice, poate uneori să apară o hemoglobină anormala, care este sintetizata la un nivel redus (de exemplu, hemoglobina Constant-Spring şi Lepore) sau hemoglobina Indianapolis - care este marcat instabila.

Variante ale hemoglobinopatiilor prin modificări structurale

Au fost descrise peste 250 variante de hemoglobine anormale, dintre care multe au incidență redusă și putine sunt insojite de manifestări clinice şi hematologice.

Majoritatea hemoglobinopatiilor prin modificări structurale sunt consecinţa unei mutatii punctiforme, care afectează un triplet de bază (codon) din gena globinei şi, deci, se produce substituia unui singur aminoacid cu altul, într-o anumită poziţie din lantul de globina (de exemplu - Hb S, Hb C, Hb E, Hb D etc).

Dacă mutatia punctiformă afectează codonul, final (stop cadru) al genei pentru lanţul alfa de globină, acesta va avea in final aminoacizi in plus la una din porțiunile terminale (de exemplu - Hb Constant Spring). In această hemoglobinopatie, care se poate asemana cu varianta alfa a talasemiilor, unul din lanţurile alfa este cu 31 de aminoacizi mai lung decât cel normal, dar sinteza lui este redusa.

Un numar mic de hemoglobine anormale ar putea rezulta din lipsa unuia sau mai multor triplete sau din contra din inserția unor triplete in plus. In consecinta acestea vor prezenta o pierdere a unuia sau mai multor aminoacizi, respectiv vor avea aminoacizi în plus in interiorul lantului alfa.

O variantă de Hb anormala ar putea să apară prin fuziunea genelor şi contine lanțuri hibride construite din părti ae lantului delta si beta (hemoglobina Lepore) sau gama și beta (hemoglobina Kenya).

Aspectul clinic şi hematologic al anomaliilor care pot si apara ca rezultat al unei modificări de structură a hemoglobinei, pot fi prezentate in tabelul V – 3.

Aspecte hematologice şi clinice asociate cu hemoglobinopatiile de tip structural Tabelul V-3

Varianta hemoglobinopatiei	Aspecte hematologice şi clinice
Hemoglobina S	Anemie hemolitică cronică şi crize dureroase recurente (la adult) legate de fenomenul de siclizare a hematiilor in cursul deoxigenarii*
Hemoglobina C	Anemie hemolitica cronica determinata de reducerea plasticitatii hematiei in cursul deoxigenarii*; HbC deoxigenata este mai putin solubila decat HbA deoxigenata
Hemoglobina Koln Hemoglobina Hammersmith	Anemie hemolitica spontana sau indusa de medicamente datorita instabilitatii Hb si a precipitarii intracelulare
Hemoglobina M Boston sau Hemoglobina M Saskatoon	Cianoza datorată methemoglobinei congenitale ca o consecinta a substitutiei de aminoacizi in interiorul si in vecinatatea buzunarului hemului
Hemoglobina Chesapeake	Policitemie ereditara prin cresterea afinitatii pentru oxigen
Hemoglobina Kansas	Anemia şi cianoza prin scaderea afinitatii pentru oxigen
Hemoglobina Constant Spring Hemoglobina Lepore Hemoglobina E	Sindrom asemanator cu talasemia caracterizat printr-o rata scazuta de sinteza a unui lant anormal
Hemoglobina Indianapolis	Sindrom asemanator cu talasemia datorat unei instabilitati marcate a Hb

* Numai la homozigoti

Exemplul clasic de hemoglobinopatie congenitala prin modificare structurala este hemoglobinopatia S sau siclemia. Hemoglobina E este foarte comun în Sud- Estul Asiei şi este prezentă intr-un procent de 50 in unele regiuni ale Tailandei.

Heterozigotii au aproximativ 20 - 30/Hb F; sunt asimptomatici şi nu sunt anemici. Aceştia au un VEM scazut si pe frotiu se descriu multe hematii “in tinta". Homozigojii sunt caracterizați prin anemie medie, au un VEM scăzut şi un procent crescut de hematii “in tinta".

Hemoglobina C este descrisa la populaţia din Africa de Vest, fiind prezenta in procent do 6-22 la populatia din Nigeria şi din Nord-Estul Ghanei. Heterozigoţii cu 30-40% HbC, sunt asimptomatici, nu prezinta anemie şi au pe frotiul de sânge periferic un procent de 6-40 hematii “in tinta”. Homozigotii au o anemie medie/uşoară, cu un VEM scăzut sau normal, splenomegalie si multe hematii “in tinta" pe frotiul de sange periferic.

Hemoglobinele S, E, C apar prin substitutia unui singur aminoacid dintr-singur lant beta al globinei. Când se produce această substitutie unică a unui aminoacid, migrarea hemoglobinei pe câmpul de acetat de celuloza (la pH egal cu 8,5) se modifică.

Hemoglobina cu structura anormală are o altă greutate moleculară şi mobilitatea ei in campul electroforetic este diferită in raport cu HbA.

Hemoglobina de tip S

În această variantă de Hb, acidul glutamic din poziţia 6 a lanţului beta normal, este inlocuit printr-o moleculă de valina. Rezulta o Hb S care in stare redusa este de 50 de ori mai puțin solubilă decât Hb A redusa. In condiții de hipoxie, moleculele de Hb S deoxigenată (redusă) formează iniţial, polimeri, apoi fibre lungi (lactoizi) care deformează hematia intr-o formă tipică de "seceră". Această formă este explicată de faptul că polimerii de Hb se aşează pe axul lung al hematiei, iar membrana se pliază pe acest conținut rigid.

Heterozigoţii pentru Hb S prezintă fenomenul de siclizare la o presiune mai mică a oxigenului decat homozigotii care nu se realizează în conditii obişnuite.

Varianta structurala Hb S se observa pe arii intinse ale globului: Africa tropicala, in unele ţări din bazinul mediteranean, în Orientul Mijlociu şi in Sud Estul Indiei.

Incidenja Hb S in aceste arii variază de la valori foarte joase până la 40 % din populatie. La populația de culoare, negrii din America, prevalenta este de 8 %. Distributia genei HbS corespunde cu ariile in care Plasmodium falciparum este endemic. Rezistenta acestei gene cu potential letal in zonele mentionate rezulta din faptul ca, heterozigorii pentru Hb S au o rată de mortalitate mai redusa datorita formei severe de malarie falciparum in primii ani ai copilăriei - comparativ cu copiii care au numai Hb A.

Tara de hemoglobină S („sickle -cell trait" - starea heterozota). Heterozigoții (o genă pentru Hb A şi o genă pentru Hb S) au hematii care conțin Hb S in procent de 20-40, restul fiind Hb A. Ei sunt hematologic normali si obişnuit, asimptomatici. Totuşi, ei pot prezenta hematurie spontană și necroză papilară renala, dar cu frecventa destul de mică.

Paçienţii mai in varsta, deseori, pierd capacitatea de concentrare a urinii. Hematiile prezintă fenomenul de siclizare doar atunci când saturația cu oxigen a Hb scade sub 40 %, nivel care este foarte rar atins chiar în sângele venos. Crizele dureroase şi infarctul splenic se pot observa la pacienţii cu stari hipoxice severe."

Anemia cu siclemie

Homozigotii pentru Hb S prezintă o anemie cu hematii - „in seceră" care contine peste 80 % Hb S, restul de Hb fiind, in principal, de tip fetal (Hb F). Hematiile suferă fenomenul de siclizare la presiunea parțială normală a oxigenului din sângele venos. Initial, există cicluri de siclizare şi de revenire la forma normala a hematiilor, in cursul proceselor de reducere şi oxidare. Ulterior, siclizarea unor hematii devine ireversibila. Hematiile siclizate cât și cele nesiclizate, fiind mai puţin plastice decât hematiile normale, vor suferi un proces de hemoliza, atat extravasculara, cat şi intravasculara.

Creşterea rigidității hematiilor ar putea induce fenomenul de incetinire a circulației (fenomenul de "sludging") cu obstructia vaselor sanguine mici si ocazional a celor de talie medie, cu infarct tisular consecutiv.

Simptomele datorate infarctelor tisulare nu se observă permanent; de obicei survin in episoade. Există o anemie cronică la toate varstele, dar obişnuit valoarea Hb este intre 6-9 g/dl. Tesuturile au posibilități particulare de infarctizare la diferite varste, astfel că în timp, tabloul clinic al pacientului suferă modificări importante. In plus, o parte din bolnavi sunt moderat afectati având puţine sau nici un infarct tisular in toată perioada vieţii lor.

Un aspect caracteristic al anemiei cu siclemie (Hb S) la nou-născuţi şi in prima perioada a copilăriei este dactilia sau sindromul mână-picior, care apare datorita ocluziei arterelor nutritive de nivelul metacarpienelor şi a metatarsienelor. Sindromul se caracterizează prin tumefacţii simetrice, dureroase şi neeritematoase la nivelul mainilor şi picioarelor, care dureaza 10-14 zile.

Crizele dureroase pot mima reumatismul acut. Nou-născuţii şi copiii pot prezenta de asemenea un sindrom de sechestrare splenică, care are un prognostic foarte sever, pentru această categorie de pacienți. În acest caz este vorba de o sechestrare rapidă şi extensivă a hematiilor în splină, cure conduce la o anemie severa asociată cu o splenomegalie masiva, cu reducerea volumului sanguin şi şoc hipovolemic. Această stare clinică trebuie totală de urgență cu transfuzii de sânge.

La tineri și la adulţi, episoadele vaso-oclusive repetate conduc la crize dureroase caracteristice: dureri fulgurante care afecteaza oasele, articulatiile mari ale membrelor şi ale coloanei vertebrale. Acestea pot fi insoţite de o stare subfebrila si au o durată variabilă, de la cateva zile la cateva săptămăni (vezi tabelul V-4). Uneori, aceste crize dureroase se pot localiza la nivelul abdomenului, toracelui sau numai la un membru: inferior sau superior. Pacienții din această grupă de vârstă, de asemenea, pot prezenta infarcte mari care afectează plamanul, sistemul nervos central şi oasele (apare o necroza aseptică a capului femural, a humerusului sau la nivelul diafizelor oaselor lungi).

Alte aspecte clinice constau in ulcerele cronice ale gambelor, localizate, in special, perimaleolar şi priapism.

Splina este palpabilă la copii, dar se atrofiaza progresiv datorii repetatelor infarcte şi uneori nu poate fi descoperita la examenul fizic al pacientilor adulti (fenomenul de „autosplenectomie" prin repetate infarcte).

Majoritatea pacienţilor prezintă modificări ale vaselor retiniene la examenul fundului de ochi.

Crizele de epilepsie, de eritroblastopenie, datorate parvovirusurilor pot agrava tabloul de anemie. In plus, există o deficienţă secundară de acid folic, care se consumă permanent pentru refacerea populaţiei de eritrocite distruse in procesele de hemoliză.

Există o creştere a susceptibilităţii la infecţiile bacteriene fulminante, datorata asocierii hiposplenismului cu anomalii de opsonizare.

Consecintele clinice ale episoadelor vaso-oclusive din siclemie Tabelul V-4

Evenimentul	Incidenta	Caracteristici clinice
Acut Crize dureroase	50% din cazuri	Dureri de intensitate variabila in una sau mai multe regiuni
Sindrom toracic	10-20% din adulti	Poate afecta in intregime un plaman (se diferenţiază cu dificultate de pneumonie)
Priapism	10-20% din barbati	Impotenta sexuală
Accidente cerebrovasculare	5-10% din copii	De obicei, hemoragii subarahnoidiene
Hepatopatie	3% din adulti	Içter intens
Cronica Necroza aseptica a osului	10-25% din adulti	Afectarea femurului si humerusului
Retinopatie proliferativa	5% din adulți	Poate determina dezlipire de retina
Ulcere de gamba	10-20% din cazuri	Pot fi uneori infirmizate
Asplenie funcţională şi autosplenectomie	90% din adulti	Susceptibilitate crescuta la infectii
Nefropatie	varstnici	Sindrom nefrotic, insuficienta renala

Hiperbilirubinemia persistentă, secundara hemolizei, se asociaza cu o incidenţă crescuta - peste 50 % - a litiazei biliare.

In siclemie există o rată mare de mortalitate, care depinde de condițiile de viață ale acestor pacienti şi de monitorizarea lor in serviciile de specialitate (hematologie).

Intr-un studiu prospectiv, efectuat in Jamaica, s-a constatat că 13 % din copiii afectaţi mor in primii doi ani de viaţă. Principalele cauze de deces au fost: sechestrarea acută splenică a hematiilor și infecțiile cu pneumococ (meningită, pneumonie, septicemie) refractare la tratament.

Mulți pacienţi cu anemie de tip Hb S au pe frotiul de sânge periferic câteva hematii cu aspect de “secera", dar un numar mic. Nu prezintă nici o modificare morfologica. Diagnosticul se bazează pe: a) testul pozitiv de siclizare a hematiilor in prezenta metabisulfitului; b) o singură bandă groasă, evidentă la electroforeza hemoglobinei, care corespunde cu poziția Hb S, atat la un pH acid cât şi la un pH alcalin: c) prezenţa tarei Hb S la ambii părinţi.

Heterozigotii pentru Hb S, de asemenea, pot avea un rezultat pozitiv la testul de siclizare in vitro, dar nu prezintă hematii in forma de “secera" pe frotiul de sange periferic, iar la electroforeza hemoglobinei prezintă alături de Hb S si un procent ridicat de Hb A normala.

Tratamentul siclemiei. Fiind o afecţiune cronica, trebuie să asiguram o bună nutriție a pacientului, efectuarea corecta a imunizărilor şi evitarea infecțiilor. Nu există un tratament specific pentru episoadele vasooclusive. Este necesară hidratarea bolnavilor şi calmarea durerilor cu analgetice obişnuite sau opiacee.

Transfuziile de sânge trebuie administrate de urgenta in crizele de aplazie medulară şi de sechestrare splenică. De asemenea transfuziile pot preveni accidentele trombotice cerebro-vasculare.

Ca in toate anemiile hemolitice este necesară suplimentarea cu acid folic.

Talasemiile

Un studiu larg şi amănunțit asupra talasemiilor a fost realizat de Weatherall si Clegg in 1981.

In funcţie de lantul de globină care prezinta defectul cantitativ de sinteză, talasemiile sunt divizate în două grupuri principale:

- alfa talasemia şi beta-talasemiile.

Sinteza fiecărui tip de lant de globină (alfa, beta, gama, delta, epsilon, zera) este codificat de gene separate. Subunitatile epsilon şi zeta sunt întâlnite doar in hemoglobina embrionară. Un individ normal moşteneşte două gene beta, patru gene alfa şi patru gene gama. Genele care codifică lanturile gama, delta şi beta sunt localizate pe cromozomul 11 (vezi fig. 5.4), iar genele alfa - pe cromozomul 16.

La adult putem găsi:

Hb A_1 - $_2$ $_2$---- 95,5-97,5%

Hb A_2 - $_2$ $_2$---- 1,3-3,5%

Hb F - $_2$ $_2$---- 1%

Harta cromozomială permite intelegerea defectului genetic din sindroamele talasemice - elementul fundamental - care stă la baza fiziopatologiei acestor hemoglobinopatii (vezi fig. 5.5).

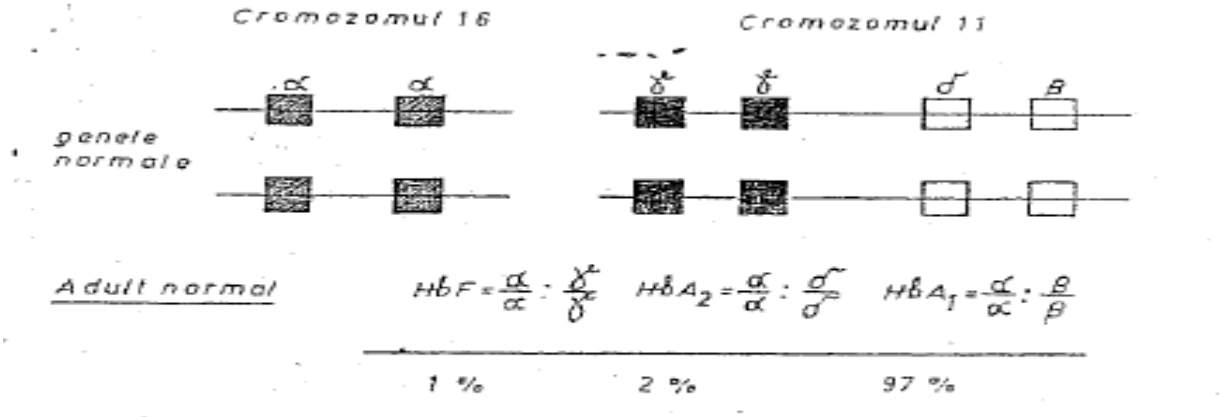


Fig. 5.4 — Distribuția genelor care codifică lanțurile globinei la adult normal.

Fig 5.4 - Distributia genelor care codifica lanturile hemoglobinei la adult normal

Beta-talasemiile

Sunt forme de talasemie răspandite pe tot globul, dar cu frecventă mai mare în bazinul mediteranean, în anumite regiuni ale Orientului Mijlociu, India, Pakistan, Asia de Sud-Est etc. In aceste zone, frecventa purtătorilor de tară genetică este de 2-30 %.

S-a presupus că prevalenţa mare a genei beta-talasemice in regiunile mentionate rezulta din faptul că starea de heterozigot conferă indivizilor o protectie impotriva infestării cu Plasmodium falciparum.

Beta-talasemiile sunt consecinţa unor anomalii genetice variate. Intr-un număr de cazuri, efectul constă într-o mutaţie (substituţie de bază) in vecinătatea sau in interiorul unui intron, conducand la erori in rearanjarea axonilor şi in transcriptia informaţiei la nivelul ARNm. Se produc lanturi beta dar in cantitati reduse: această variantă este denumită beta talasemie.

In alte cazuri, se produce o mutație fără sens in regiunea de codificare a lantului beta cu absența producerii acestuia. Aceasta este cauza cea mai comună a variantei denumită beta talasemie (vezi fig. 5.5.)

Forma heterozigota de beta-talasemie

Majoritatea pacienţilor sunt asimptomatici. Concentraţia de Hb este fie nomaļă (talasemie minimă), fie uşor redusă (talasemie minora). Pe frotiurile, colorate Giemsa, se descriu microcite hipocrome, hematii “in tinta" şi eritrocite cu granulatii bazofile (foarte fine sau conglomerate alcătuite din ribosomi).

Nivelul de Hb A_2 este crescut la 3,5-7 % din pacienți, iar in jumătale din cazuri se constată creşteri moderate de Hb F intre 1-5 %. Sideremia, capacitatea de legare a fierului, cantitatea de feritină - sunt normale în absenţa unei boli care ar putea provoca pierderea cronică de fier (hernia hiatală, ulcerul duodenal).

Forma homozigota de beta-talasemie

În forma homozigotă de beta-talasemie sunt incluse două sindroame: unul caracterizat prin anemie severă care apare in a 2-a sau-12-a luna de viată (talasemie majoră), iar cealaltă asociata cu anemie moderată, care apare după vârsta de 1-2 ani (beta talasemie formă intermediară). Fiziopatologia beta-talasemiilor este prezentată in figura 5.6. Incapacitatea de a produce lanţul beta conduce la un exces de la alfa in eritroblastii bazofili şi policromatofili.

Precipitatele de lanturi alfa din interiorul acestor celule duc la o ineficienţă functionala a acestor eritroblaşti care vor fi fagocitați și degradați la nivelul sistemului monocit-macrofag din măduva osoasa (eritropoieza ineficienta).

Hematiile care ajung în sângele periferic şi care conțin precipitate de lanturi alfa vor avea o durată de viaţă scurtă, fiind recunoscute drept imperfecte calitativ de către sisteinul monocit-macrofag din splina, ficat si alte organe.

Astfel, anemia care apare, rezulta din combinația unei eritropoieze medulare ineficiente cu o hemoliza periferică. Răspunsul la această anemie şi la eritropoieza ineficienta este o hiperplazie eritroida masiva, explicand modificarile osoase care afecteaza craniul si oasele lungi.

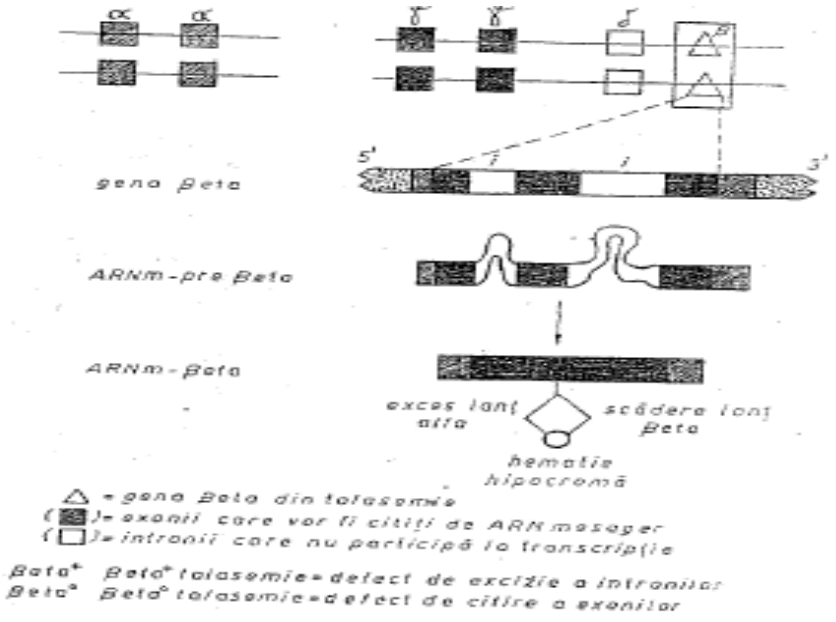

α α γ γ δ β
5' 3'
gena β
ARNm-pre β
ARNm-β
exces lant alfa
scădere lanț β
hematie hipocromă
△ = gena β din talasemie
▣ = exonii care vor fi citiți de ARN mesager
□ = intronii care nu participă la transcripție
β+ β+ talasemie = defect de excizie a intronilor
β° β° talasemie = defect de citire a exonilor

Fig. 5.5.— Anomalii genetice în beta-talasemie

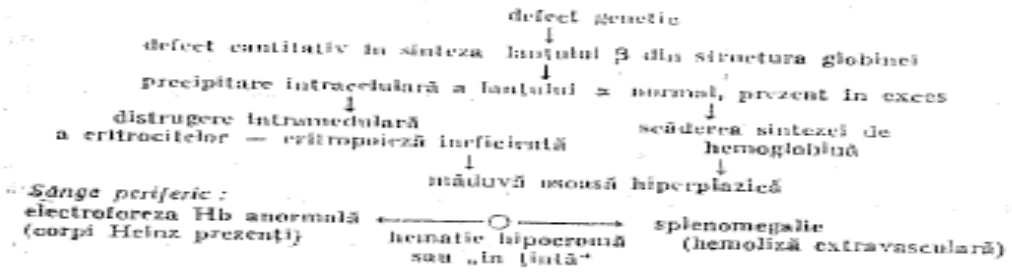

defect genetic
defect cantitativ în sinteza lanțului β din structura globinei
precipitare intracelulară a lanțului α normal, prezent în exces
distrugere intramedulară a eritrocitelor — eritropoieză ineficientă
scăderea sintezei de hemoglobină
măduvă osoasă hiperplazică
Sânge periferic :
electroforeza Hb anormală (corpi Heinz prezenți)
hematie hipocromă sau „în țintă"
splenomegalie (hemoliză extravasculară)

Fig. 5.6. Fiziopatologia beta-talasemiilor

Beta-talasemia majoră (anemia Cooley)

Aceasta boală nu este prezentă la naştere, deoarece producția de hemoglobină fetala (Hb F) nu este afectată. Sugarul devine profund anemic (concentraţia de Hb 2.5-6,5 g/dl) cu un icter moderat, în primele luni de viață - în momentul in care Hb F trebuie să fie inlocuită de Hb adulta (Hb A). La anemie şi icter se adauga tulburări de creştere şi mărirea abdomenului prin hepatosplenomegalie tumorală.

Dacă nu se instituie programul de transfuzii, creşterea copilului este intarziată, abdomenul devine din ce in ce mai mare cu o musculatura hipotonă şi apar deformări ale scheletului, datorită expansiunii tesutului eritropoietic.

Modificările de schelet determină „faciesul" caracteristic - talasemie, cu boselarea oaselor frontale şi parietale, mărirea oaselor maxilare care cauzează anomalii de implantare a dinților, uneori cu aspecte monstruoase şi ocluzia cu dificultate a cavitatii bucale.

Oasele lungi şi oasele mainii prezintă o corticală subțire. Fracturile oaselor lungi sunt frecvente. Radiografia calotei poate descrie un aspect caracteristic cu lărgirea spaţiilor diploice şi striatiuni radiale in osul subperiostal (aspect de craniu „păros"). Distructia excesivă a hematiilor (datorită depozitării intracelulare a lantului alfa in exces), conduce la mărirea considerabilă a splinei şi aceasta la gravarea anemiei, deoarece reține în cordoanele Billroth, un număr crescut de hematii, determina o mărire a volumului plasmatic şi apariţia în final, a hipersplenismului secundar, cu o scurtare şi mai importanta a duratei de viaţă a hematiilor.

Hipersplenismul cauzeaza de asemenea neutropenie şi trombocitopenie.

Fierul absorbit din intestin este excesiv şi impreună cu cel adus in organism prin politransfuzarea regulată a pacientului (fiecare unitate de sange contine 200 mg fier) contribuie la apariţia hemosiderozei, care poate fi cauză de deces la aceşti pacienţi cu talasemie Cooley, la vârsta de 10-20 ani.

Depozitarea de fier determină ciroză hepatica, diabet bronzat, leziuni miocardice cu aritmii severe şi insuficienţă cardiacă congestivă. Hemosideroza produce şi disfuncţie endocrină cu tulburări de creştere la pubertate şi o dezvoltare insuficientă a caracterelor sexuale secundare. Examinarea frotiului de sânge periferic cste deosebit de importantă. Apar hematii microcitare, hipocrome (palide), care prezintă modificări de mărime şi formă, precum şi hematii “in tinta".

Sideremia este crescuta, capacitatea totală de legare a fierului este scăzută iar indicele de saturaţie cu fier este mare, transferina fiind aproape complet saturata. Electroforeza Hb arată procentul mai mare de 50 de Hb F (vezi tabelul 5.5).

Hb A (a_2b_2) este redusa sau absenta in functie de varianta de beta-talasemie (β^{II}sau β^4).

Tratamentul formei beta talasemie majoră. Nu este posibil să influenţăm in mod apreciabil productia de lanţuri de globina, de aceea se vor face regulat, transfuzii. La 4-6 saptamani, pentru a menţine valoarea Hb la 11 g/dl. Cu această valoare a Hb, copilul creşTE, se maturează normal şi poate duce o viață obişnuită.

S-a dovedit că începerea transfuziilor în stadii precoce, previne instalarea anomaliilor osoase care sunt, de fapt, consecinTa hipoxiEi (hipoxia stimulează expansiunea eritropoiezei). Dacă splina este considerată mărită şi se dovedeşte că o parte din hematiile transfuzate sunt reținute intrasplenic, splenectomia este indicată.

Un aspect modern al tratamentului este administrarca de chelatori de fier - Desferal (deferoxamina) - pentru prevenirea hemosiderozei. Acest medicament este administrat subcutanat, folosind eventual o seringa automata.

Tratamentul imbunătăjeşte net durata de viață a pacienţilor. Nu trebuie uitată suplimentarea medicaţiei cu acid folic.

Diagnosticul prenatal al beta-talasemiei. Diagnosticul prenatal al formei homozigote poate fi stabilit prin prelevarea unei probe de sange de la fat, in săptămana 18-20 de viaţă intrauterină.

Reticulocitele sunt analizate pentru producția de lant beta şi diagnosticul de beta-talasemie forma homozigotă - este pus dacă productia lantului beta este absenta sau marcat redusa.

Pacientele sunt cele care vor decide asupra avortului fatului homozigot. Diagnosticul prenatal se poate stabili mult mai precoce in săptămâna 9-11, prin cercetarea directă a ADN din amniocite coriale - folosind probe de oligonucleotide complementare pentru mutaţiile specifice.

Talasemie beta intermedia

Cei mai mulți pacienţi cu această formă clinică au o stare generala relativ bună și necesită transfuzii numai in cazul infectiilor intercurente. Aspectele clinice includ: modificari scheletale, splenomegalie (când devine importanta se indica splenectomie), ulcere gambiere recurente şi hemosideroza la adult, datorită absorbtiei crescuta de fier şi hemolizei hematiilor imperfecte.

Tabloul clinic al talasemiei intermediare este caracteristic atât pentru beta talasemie forma homozigotă, cât şi pentru formele rezultate din interactiunea beta-talasemiei cu alte anomalii genetice (exemplu: alfa-talasemia, delta-beta talasemia şi Hb Lepore).

Alfa-talasemiile

Alfa-talasemiile sunt anomalii genetice intalnite cu frecvenţă mare în sud-estul Asiei (Thailanda, Indonezia, bazinul mediteranean, Orientul Mijlociu și Africa de Vest). Cazuri sporadice au fost descrise la toate grupele rasiale.

Aşa cum a fost mentionat anterior, pentru lanțurile alfa din structura globinei există 4 gene, localizate pe perechea cromozomiala 16, moştenite de la ambii părinţi. In marea majoritate a cazurilor, alfa-talasemiile au la bază deleţia uneia sau mai multor gene. Manifestările clinice sunt corelate direct cu numarul genelor alfa, care au suferit un proces de deleție.

Afectarea unei singure gene sau chiar a două gene din cele patru care codifica lanțurile alfa, induce o stare asimptomatică, cu modificări hematologice minore. Deleția a trei gene

determină boala cu Hb H. Când toate genele suferă delenie apare sindromul de hidrops fetal cu Hb Bart.

Există două varietati principale de cromozomi anormali (vezi figura 5.7). In prima varietate, este afectata una din cele două gene alfa de pe cromozomul 16 (este denumită α^4 talasemie). În cea de-a doua, ambele gene de pe acelaşi cromozom suferă deletie rezultând α^0 talasemia.

α^4 talasemie (deleţia unei singure gene)

Apare atunci când defectul interesează numai o singură genă din cele patru. Mai este denumită şi forma α^4 heterozigota.

Pacienti sunt asimptomatici, dar pot prezenta uneori o anemie uşoară. In 15 % din cazuri, pot apărea pe frotiul de sânge periferic hematii hipocrome şi microcitare.

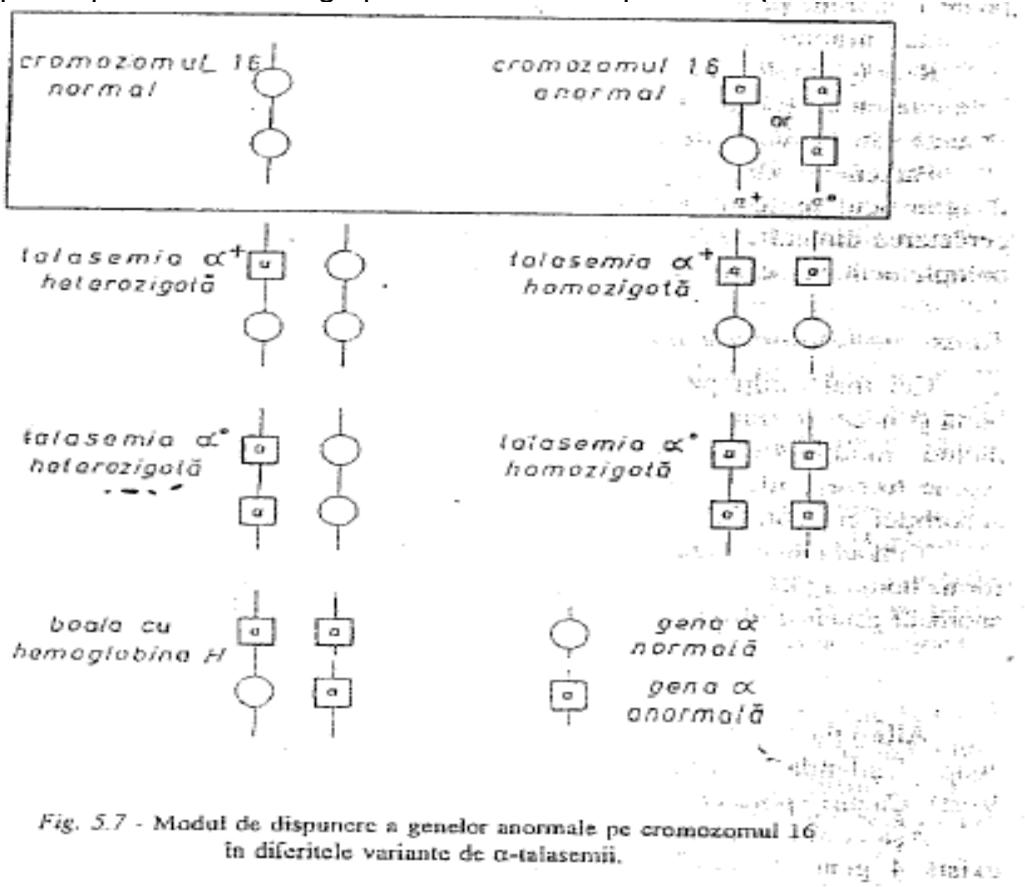


Fig. 5.7 - Modul de dispunere a genelor anormale pe cromozomul 16 în diferitele variante de α-talasemii.

Fi. 5.7- Modul de dispunere a genelor anormale pe cromozomul 16 in diferitele variante de talasemie.

Aspecte comparative ale formelor clinice de talasemie Tabel V-5

	Majora	Intermedia	Minora	Minima
Severitatea manifestarilor	++++ homozigoti	++ homozigoti,	+/± heterozigoti	±/0 heterozigoti

Genetica		rareori heterozigoti		
Electroforeza hemoglobinei	HbF in execes HbA_2=4-10%	HbF = 6-12% HbA_2=3,5-7%	HbF = 1-5% HbA_2=3,5-7%	HbF = 1% HbA_2=3,5-7%
Splenomegalie	++++	+++/++	+/0	0
Icter	+++	++/+	0	0
Modificari osoase	++++/++	+/0	+/0	0
Anemie (Hb g/dl)	<7	7-10	>10	12-14
Hipocromie	++++	+++	++	+
Hematii “in tinta”	+++	++	+	±
Granulatii bazofile in hematii	++	+	+	±/0
Reticulocite (%)	5-15	3-10	2-5	1-2
Normoblasti	+++	+/0	+/0	0

Deleția a două gene. Se produce în două circumstanţe: forma homozigotă de $\alpha^{\pm}$ talasemie şi forma heterozigotă de α^{0} talasemie. Pacienții au hematii hipochrome şi microcitare in sangele periferic, dar nu există anemie sau hemoliza semnificative.

Electroforeza Hb este normala, cu excepția unei scăderi moderate a Hb A_2.

Boala cu Hb H (deletia a trei gene). Deleția a trei gene are ca rezultat scăderea importantă a producţiei de lanţuri alfa cu acumulare excesivă de lanturi beta care se combină şi formează tetrameri (β_4). Acest tetramer este numit Hb H şi se caracterizeaza printr-o mare instabilitate, care favorizează precipitarea intracelulară şi formarea corpilor Heinz.

Hematiile cu corpi Heinz sunt distruse fie prin măduvă (eritropoieza ineficientă), fie in splina (hemoliză extravasculară).

Tabloul clinic este variabil, de la forme uşoare pana la suferinte severe.

Concentratia hemoglobinei este de obicei cuprinsa intre 7-11 g/dl; hematiile sunt hipocrome, cu variații de formă şi dimensiune. Splenomegalia este destul de frecventă.

Sindromul de hidrops fetal cu HB Bart (deleția a 4 gene). Apare in forma homozigotă de α^{0} talasemie. Nu se sintetizeaza lanturi alfa, dar se formează excesiv lanturi gama, care se combină în tetrameri (Y_4 -Hb Bart). Accastă anomalie genetică este incompatibil cu supravietuirca, decesul survenind intrauterin in săptămânile 25-40 sau postnatal precoce.

ANEMII HEMOLITICE DOBANDITE

In anemiile hemolitice dobândite, distrugerea eritrocitelor se poate realiza prin două tipuri principale de mecanisme: imunologic şi non-imunologic.

ANEMIA HEMOLITICA IMUNĂ

Anemia hemolitică imună poate fi definită ca o anemie dobândită care rezultă din distrugerea prematură a eritrocitelor, cauzată de prezenţa anticorpilor şi sau complementului pe suprafata hematiei.

Hematiile invelite cu IgG interactioneaza cu receptorii pentru Fc ai macrofagelor şi vor fi complet sau parţial fagocitate. Cand fagocitoza este incompletă, partea restantă din eritrocite se va detaşa de macrofage şi va circula sub formă de sferocit.

Cand intervine complementul, hematiile vor fi invelite cu fractia C_3 activata şi vor interactiona cu receptorii specifici (pentru C_3) de pe macrofage cu inducerea unei fagocitoze

complete. In majoritatea cazurilor de activare a complementului, cascada reacţiilor progresează până în momentul în care C_3 se depune pe suprafaţa hematiei.

Mai rar, activarea complementului este deosebit de intensa si se desfăşoară până la etapa de formare a complexului de atac membranar (C5b, C6, C7, C8, C9), având drept rezultat liza intravasculară a hematiilor.

Anemiile hemolitice imune includ: reacţii hemolitice post-transfuzionale (vezi capitolul „Transfuzii de sange"), anemia hemolitică a nou-născutului, anemia hemolitică autoimună şi o parte din anemiile hemolitice postmedicamentoase.

In hemoglobinuria paroxistică nocturnă există un defect dobandit al membranei eritrocitare, care induce o hemoliză mediată de complement.

Anemii hemolitice autoimune

Pacienţii cu acest tip de anemie pot prezenta doua categorii de autoanticorpi:

1) autoanticorpi la cald, care reacţionează cu hematiile la temperatura de 37°C si nu produc aglutinarea acestora.

2) autoanticorpii la rece, care reactionează cu hematiile la temperaturi mai mici de 32°C şi induc, de obicei, aglutinarea acestora.

Prezentarea comparativă a celor două forme clinice de anemie hemolitică autoimună este ilustrată in tabelul V-6.

Anemia hemolitică autoimună cu anticorpi la cald

In 2/3 din cazuri anemia hemolitică autoimună cu anticorpi la cald este idiopatica. În rest, acest tip de anemie apare in cadrul unor boli, ca: leucemia limfatică cronică, boala lupica (LES), teratoame ovariene, mielom multiplu, limfoame. La majoritatca pacienţilor, natura antigenului eritrocitar este necunoscut, dar intr-un procent mic de cazuri, poate fi identificat un antigen din sistemul Rh.

Tabelul V-6

Anemiile hemolitice autoimune cu anticorpi la cald si la rece
(prezentare comparativa)

	Anemie hemolitica la cald	Anemie hemolitica la rece
Varsta	30 - 60 ani	50 - 80 ani
Sex	F> M	M>F
Hemoliza	Extravasculara	Intra-si/sau extravasculare
Anticorpi Temperatura optima Ig Fixarea complementului	 38°C IgG Nu	 32°C IgM Da
Test Coombs direct IgG Complement	 + +/-	 - +
Antigen	Sistemul Rh (in unele cazuri)	I/i
Tratament Corticoterapia Splenectomia Imunosupresoare Evitarea frigului	 60 % rezultate bune 60 % rezultate bune Rezultat incert Ineficienta	 Ineficienta Ineficienta Probabil eficiente Eficienta

Prezentarea clinica este extrem de variabila. O parte din pacienti debuteaz cu o anemie acută severă si au a evoluţie gravă. Alti pacienti sunt asimptomatici sau prezinta manifestări clinice

minore ce insotesc o anemie medie cronica sau chiar o stare de hemoliza compensata. Icterul este moderat şi splenomegalia este prezenta in majoritatea cazurilor.

Datele hematologice includ: anemie, prezenta sferocitelor pe frotiu, reticulocite crescute, normoblasti in sangele periferic, leucocitoza cu neutrofilie. Prin testul Coombs direct se poate determina IgG si eventual complementul pe suprafata hematiilor.

La cei mai înalţi pacienţi, hemoliza poate fi incurajata prin tratament cu corticosteroizi, care sunt indicati initial in doze mari. Dacă nu există raspuns terapeutic la corticoterapie, sau daca reducand doza de Prednison, hernoliza reapare, se indică splenectomia sau terapia imunodepresiva cu medicamente ca Imuranul (azathioprina) şi ciclofosfamida.

Anemia hemolitică autoimună cu anticorpi la rece
Boala aglutininelor la rece

Acest tip de anemie este mai putin întâlnit comparativ cu anemia hemolitică imună la cald. Există forme idiopatice şi forme secundare unor afecţiuni ca: limfoame maligne, boli de colagen, pneumonia cu mycoplasma.

Manifestările clinice apar in urma expunerii la frig, tegumentele fiind cel mai des afectate.

Pot fi prezente fenomene de tip Raynaud sau acrocianoza (tegumente reci, de culoare albastru-violaceu, cu parestezii la nivelul mâinilor, picioarelor, nasului şi lobului urechii). Acrocianoza se datorează aglutinarii hematiilor in vasele din piele. Obişnuit, pacienţi prezintă hemoliză extravasculara cronică, cu grade variate de distructie intravasculară a hematiilor.

O mică parte din bolnavi poate dezvolta o hemoliză intravascular brutala, cu hemoglobinurie declanşată de expunerea la frig. Testul Coombs direct va fi pozitiv pentru componentele complementului şi negativ pentru imunoglobuline.

Frotiurile de sânge periferic, recoltate la temperatura camerei, descriu hematii aglutinate in fisicuri. Aglutinina la rece din forma idiopatică de boală este un anticorp de tip IgM monoclonal, cu specificitate pentru antigenul -1 din membrana hematiei. Titrul anti-I la 4^0 poate fi foarte mare 1/ 2000 – 1/500000 (normal 1/40 - 1/40).

Rar pacienții care au pneumonie cu Mycoplasma sau mononucleoza infectioasă dezvoltă o boală autoimună cu anticorpi la rece, datorita producţiei de IgM policlonale care vor reactiona atât cu antigenul I cat şi cu antigenul I din membrana hematiei.

În boala cronică a aglutininelor la rece, crizele de hemoliza pot fi prevenite, prin schimbarea locului de viaţă şi de muncă al pacientului. Dacă este necesar se administrează imunosupresoare: Clorambucil (Leukeran) sau ciclofosfamida (Endoxan).

Hemoglobinuria paroxistică la rece

Această boală rară este produsă de un anticorp de tip IgG cu specificitate pentru antigenul P din membrana hematiei. Acest anticorp capabil de a lega complementul este denumit Donath-Landsteiner. Pacientii suferă episoade acute de hemoliza intravasculara cu hemoglobinurie marcată cand sunt expuşi la temperaturi joase.

Diagnosticul se bazeaza pe studii serologice care demonstrează prezenţa acestui tip particular de anticorp. O metoda rapida de recunoaştere consta din incubarea hematiilor pacientului cu ser la 0 - 4^0C şi apoi incalzirea acestui amestec (hematii și ser) la 37^0C.

In prima etapa, la 4^0C, anticorpii se fixeaza pe hematii, dar liza acestora se produce numai la temperatura de 37^0C.

Din acest motiv, anticorpii Donath-Landsteiner mai sunt numiti şi anticorpi bifazici.

Hemoglobinuria paroxistică nocturnă (HPN)

Hemoglobinuria paroxistică nocturnă este o anemie hemolitică cronică dobândită, care are la baza o sensibilitate crescuta a eritrocitelor aa constituienţi plasmatici normali (complement şi properdina) şi care se caracterizează prin hemoglobinemie persistentă şi episoade de hemoliză acută cu hemoglobinurie.

Mecanismul de producere al HPN poate fi explicat printr-o mutaţie în celulele stem din măduva osoasă. Ca urmare, se formează o clonă care are un avantaj de creştere fată de celelalte celule normale. Aceasta tinde să ocupe teritorii din ce in ce mai mari, proces care a fost asemănat cu cel de leucemie.

Din această clonă iau naştere trei sisteme celulare anormale: eritrocite, leucocite şi trombocite cu defect de membrana, care le face foarte sensibile la liza prin complement.

Boala afectează adultii tineri. Debutul este insidios şi tabloul clinic variabil. Caracteristica bolii este aparitia crizelor hemoglobinurie in timpul somnului sau dimineata, la trezire, la bolnavi cu anemie hemolitică cronică sau aparent sănătoşi. Frecventa şi intensitatea crizelor variaza de la caz la caz. Rareori au un aspect dramatic, de şoc hemolitic. Mai frecvent, sunt discrete şi trec neobservate, dacă nu se remarcă culoarea neagră a urinilor, dimineaţa, care se normalizează in cursul zilei. O parte din bolnavi se prezintă la medic pentru repetate crize de dureri abdominale, ca urmare a unor tromboze mezenterice mici.

Anemia poate fi moderată sau severă, însoţită de leucopenie şi trombocitopenie (singura anemie hemolitică cu leucopenie). Ca urmare a hemolizei intravasculare se produce hemoglobinurie cu hemosideremie constantă şi persistentă chiar in afara crizelor.

Pierderile zilnice de fier variază intre 1-15 mg în timpul crizelor hemoglobinurice, pierderile de fier sunt mult mai mari. Deficitul de fier poate agrava anemia.

Tabloul clinic al HPN ponte fi complicat de aparitia infecțiilor, crizelor aplastice și trombozelor. Acestea din urma apar mai frecvent după crizele hemolitice în teritoriul port, mezenteric, renal, cerebral sau al membrelor. Diagnosticul acestui tip de anemie are la bază susceptibilitatea la liză a hematiilor, atunci cand sunt incubate cu ser autolog, proaspăt acidifiat (testul Hom). Mai poate fi utilizat testul cu sucroza.

Tratamentul are următoarele obiective: corectarea anemiei, reducerea hemolizei, prevenirea şi tratarea complicatiilor. Transfuziile cu eritrocite spalate amelioreaza anemia şi reduc hemoliza, de aceea constituie cea mai a metoda de tratament. Transfuziile cu sânge integral sunt contraindicate, intrucât componentii plusmatici accelerează procesul hemolitic.

Perfuziile cu Dextran se folosesc in crizele acute pe perioade scurte si uneori, suprima crizele hemolitice (probabil prin legarea properdinei). Se poate administra fier pentru corectarea deficitului dar cu mare prudenta, deoarece poate precipita crize hemolitice.

Acidul folic este util in multe cazuri, când apare deficitul prin consum. Mai nou, se încearcă tratamentul de măduvă osoasă. In unele cazuri, HPN poate sa apară in cursul evolutiei unei anemii aplastice, să o preceadă sau sa se dezvolte după vindecarea acesteia.

Uneori, HPN poate evolua spre o leucemia acută. De altfel, fosfataza alcalina leucocitara (FAL) este 0, aspect intalnit numai in leucemia granulocitara cronica şi în leucemia acută mieloblastică.

Sunt autori care isi pun întrebarea daca HPN nu este un posibil „candidat" la sindromul mieloproliferativ.

Boala hemolitică a nou-nascutilor

Boala hemolitică a nou-născutului este o afectiune complexă care apare la fat şi nou-născut şi care are la bază o incompatibilitate de grup sanguin intre copil si mamă, cu imunizare consecutivă.

Izoanticorpii eritrocitari formati la mamă traversează bariera placentara şi produc hemoliza la fat.

Clinic, boala se manifestă prin: anemie de tip hemolitic, hiperplazie eritroblastică in măduva osoasă, ficat şi splină, icter cu hiperbilirubinemie indirectă în primele 24-36 ore de viaţă, edeme, hepatosplenomegalie, sindrom hemoragic, convulsii.

Testul Coombs direct este pozitiv. Pe frotiul de sânge periferic se descriu: reticulocitoza, numar crescut de normoblaşti, macrocitoză, policromatofilie, sferocitoză. Complicația cea mai

gravă o constituie encefalopatia hiperbilirubinică (icterul nuclear) care apare când bilirubina indirectă are o valoare de 20-25 mg/dl.

Cea mai frecventa imunizare se produce in sistemul Rh. Boala poale fi suspectată când femeia a avut in antecedente avorturi spontane, naşteri de feți morți sau copii cu boală hemolitică izoimună.

Profilaxia icterului hemolitic in cazul incompatibilităţii din sistemul Rh se face prin administrarea de Ig umane specifice anti-D după primul contact al mamei cu antigenul.

Dacă la naştere hemoglobina este sub limita inferioară de 13,5 g se indică de urgenţă exsanguinotransfuzia (aceasta se mai indică şi in cazul in care bilirubina depăşeşte 20 mg %). Această metodă are două avantaje:

1) inlocuieşte sângele Rh^+ al nou-născutului cu sânge Rh-, care nu va mai reactiona cu anticorpii anti-D;

2) previne apariţia icterului nuclear, prin mentinerea concentratiei bilirubinei sub 20 mg %.

De menţionat că monitorizarea atenta a bilirubinei indirecte este obligatorie, uneori fiind necesare mai multe exsanguinotransfuzii.

ANEMII HEMOLITICE NON-IMUNE

Cauzele cele mai frecvente de anemii hemolitice non-imune sunt prezentate in tabelul V-7.

Anemii hemolitice non-inmune Tabel V-7

A) Leziunea mecanica a hematiilor
Fragmentarea hematiilor datorita unor anomalii la nivelul inimii şi vaselor mari: proteze valvulare aortice, boala aortică severă, anevrism disecant excesiv de aorta.
Anemia hemolitica microangiopatica: sindrom hemolitic uremic, purpura trombotică trombocitopenica,
CID, hipertensiunea arteriala cu evoluţie malignă, metastaze maligne, hemangiom gigant cavernos.
Hemoglobinurie de mars.
B) Arsuri
C) Infectii
Septicemia cu Clostridium welchii sau cu variati coci, leprospiroza, malaria, toxoplasmoza, bartoneloza si babesioza.
D) Medicamente, nje chimice, veninuri
Medicamente oxidante, chimicale pe baza de arsenic, veninul de la anumite specii de paianjeni si serpi.
E) Hipersplenism

ANEMII HEMOLITICE INDUSE DE MEDICAMENTE

Orice medicament care afectează componenţii structurali ai hematiei sau activitatea funcţională a acestora, poate cauza reducerea duratei de viaţă a eritrocitelor. De aceea, nu este surprinzător că un număr mare de medicamente sunt citate ca fiind capabile sa cauze hemoliza.

În diagnosticul acestui tip de anemie hemolitică este necesară o anamneza atenta şi repetată privind expunerea la medicamente sau substante chimice. Modul precis de actiune al medicamentelor asupra hematiilor nu este cunoscut, dar por fi descrise cinci tipuri de acțiuni posibile:

1. Anumite substanje chimice, cum ar fi benzenul, toluenul, saponina dizolva componenţii lipidici din membrana hematiei, care devine astfel susceptibila la liză.

2. Anumite medicamente cum ar fi: primaquina, sulfonamidele şi fenacetina - oxidează şi denaturează hemoglobina precum şi alti componenti ai celulei, la persoanele cu deficienţă de G6PD si alte enzime ale sistemului redox. Totusi, davc aceste medicamente sunt date in cantitate mare, acestea pot afecta chiar si hematiile cu un continut enzimatic normal. Cand sunt

administrate in doza obişnuită, doua medicamente oxidante (ex. - dapsona şi sulfasalazina) poate să apara hemoliza la un număr mare de pacienti.

3. Există medicamente care se combină cu componente de suprafata ai hematici şi generează complexe care acționează ca antigen. Se va forma un anticorp faţă de acest antigen care va reactiona cu complexul medicament-component din membrana hematiei, cu liza consecutiva a eritrocitului. Penicilina, cand este data in doză mare, poate, ocazional, să producă anemie hemolitică prin acest mecanism (fenomenul de "penicilinizare" din anemia hemolitică dobanditä).

4. Anumite medicamente cum ar fi Stibofenul, devin antigenice, dupa ce s-au combinat cu anumite proteine serice. Anticorpii, care sunt produşi formeaza complexe antigen-anticorp, care vor fi absorbite pe suprafaţa hematiei. Aceste complexe vor activa complementul care cauzeaza liza hematiilor incarcate inocent cu complexe imune (fenomenul de "innocent bystander").

5. Metildopa, acidul mefenamic şi acidul flufenamic constituie elementele „trigger" ale unei anemii hemolitice autoimune cu anticorpi la cald, prin efectul inhibitor pe care-l au asupra populaţiei T de limfocite supresoare, cu activarea consecutivă a limfocitelor B.

Leziunea mecanica a hematiilor

Cand hematiile sunt supuse unei traume mecanice excesive in sistemul cardiovascular se poate produce o scurtare a duratei de viaţă acestora prin fragmentare şi liză, independent de elementele proprii eritrocitar (meabrani hemoglobina, enzime).

Uneori, leziunea mecanică a hematiilor este suficient de severa pentru a produce hemoliza intravasculara brutal cu hemoglobinurie, hemoglobinemie, hemosiderinurie. Diagnosticul acestui tip de anemie hemolitică este stabilit prin examinare atentă a frotiului de sânge periferic.

Pe frotiu sunt descrise numeroase hematii fragmentare, denumite schizocite. Schizocitul este o hematie, care în urma traumei mecanice intravasculare şi-a pierdut o parte din membrană şi citoplasmă. Astfel, pot rezulta forme bizare de schizocite, cele mai des intalnite aspecte fiind hematii "in semiluna", "coif", "triunghi" sau microsferocite.

Ca model de leziune mecanica a hematiei se poate mentiona anemia hemolitică din coagularea intravasculară diseminată, forma acută, când eritrocitele sunt fragmentate la nivelul trombilor de fibrină din microcirculaţie.

Capitolul 6
MACROCITOZA ŞI ANEMIILE MACROCITARE

Macrocitoza şi anemiile macrocitare se pot intalni intr-o varietate de boli. In unele condiţii asociate cu macrocitoza precursorii eritroblastici au o morfologie normala (eritropoieza normoblastica) iar in altele, reprezintă anomalii morfologice asemanatoare cu cele din deficienta de vitamina B_{12}. Măduva osoasă ce conține acest tip anormal de eritroblaşti este sediul unei eritropoieze denumită megaloblastica. În cursul investigațiilor efectuate pentru stabilirea etiologiei anemiei macrocitare, este deseori util să determinam tipul de eritropoieza, prin examinarea frotiurilor de maduva osoasa.

ERITROPOIEZA MEGALOBLASTICĂ

Cauzele eritropoiezei megaloblastice sunt:

a) Deficienta de vitamina B_{12} sau de acid folic;

b) Anomalii ale metabolismului vitaminei B_{12} sau a folatilor;

c) Anomalii biochimice independente de vitamina B_{12} şi folaţi.

Eritropoieza megaloblastica este caracterizata prin prezenta unor precursori anormali ai eritrocitelor, denumiți megaloblasti. Megaloblastul este o celula cu un diametru mult mai mare decât al normoblastului, cu cromatina nucelară fin dispersată. Nucleul mare apare disproportionat

de tanar in comparaţie cu citoplasma eritroblastului, ceea ce denotă un asincronism evident de maturație între nucleu şi citoplasma.

În măduva osoasă sunt prezenţi megaloblaşti, metamielocite gigante, care sunt de două ori mai mari decat metamielocitele normale, iar nucleul are aspect de potcoavă. Nesegmentatele pot fi de asemenea gigante, cu nucleul mare, aşezat la periferie, cu tendinta la segmentare. Anomalii morfologice se pot descrie şi in megacariocite, care sunt mult mai mari și polilobate, păstrand şi pentu aceasta serie asincronismul de maturaţie intre nucleu şi citoplasma.

Megaloblastii suferă în măduva osoasă modificări importante ale proliferarii celulare, de aceea multi din megaloblaştii maturi (policromatofili) sunt fagocitati şi degradaţi de macrofagele locale. Cu toate că măduva osoasă prezintă o hiperplazie eritroblastică, ea este in mare parte eficientă. În ansamblu turnover-ul seriei eritroblastice este suboptimal, astfel că în sângele periferic ajunge un numar mic de hematii și se instalează o anemie de grade variate. Mule mielocite si metamielocite sunt distruse la nivelul măduvei osoase, demonstrand o granulopoieză ineficientă, cu apariția neutropeniei în sângele periferic.

Modificările megaloblastice se observă când sinteza de ADN este perturbata, dar baza biochimică a anomaliilor morfologice rămâne necunoscută.

În deficiența de vitamina B_{12} şi folați, modificările megaloblastice nu se limitează numai la măduva osoasă, fiind afectate şi o serie de celule epiteliale de la nivelul mucoasei bucale, nazale, limbii, tractului urinar, jejunului, vaginului şi colului uterin.

TABLOUL SANGUIN LA PACIENTII CU HEMATOPOIEZĂ MEGALOBLASTICĂ

Unii pacienţi au un volum al hematiei (VEM) crescut, fără a prezenta totusi anemie. Totuşi, dacă li se corecteaza defectul de bază, nivelul de hemoglobină creşte, indicand că aceasta din urma se găseşte sub valorile corespunzătoare. La alţi pacienţi volumul mare al hematiei este asociat cu grade variate de anemie. Numărul absolut de reticulocite poate fi redus, normal sau chiar uşor crescut, dar valoarea lui este mult mai mică dacă este raportat la populația crescută de precursori eritroblastici. Durata de viata a hematiilor este uşor redusă. Anemia este in principal datorata ineficienţei eritropoiezei megaloblastice. Pe frotiurile de sange periferic se observă hematii de talie mare, macrocite şi de forma ovale. De asemenea, pe frotiu se poate descrie aspectul de anizocitoză cu poikilocitoza .

La pacienţii cu hematopoieză megaloblastică neutrofilele circulante prezintă un aspect caracteristic: hiperpigmentarea nucleului. In condiţii normale, mai puţin de 3 % din granulocitele neutrofile au un nucleu cu 5 sau mai multi lobuli, dar în deficiența de vitamina B12 și folați, un procent ridicat de neutrofile sunt hipersegmentate, nucleul lor având 8-10 lobuli. Hipersegmentarea nu este un semn morfologic specific pentru hematopoieza megaloblastică, deoarece poate apărea si în anemia feriprivă sau în anemia din insuficiența renală, chiar daca in aceste cazuri depozitele de vitamina B12 şi folați sunt normale. Neutrofilele hipersegmentate din sangele periferic nu provin din metamielocitele gigante, ci din precursori cu aspect nomal. Cand modificarile megaloblastice sunt severe, apar neutropenia şi trombocitopenia (datorita granulocitopoiezei şi trombocitopoieza ineficiente).

ANEMIILE MEGALOBLASTICE
(ANEMIILE MACROCITARE CU ERITROPOIEZĂ MEGALOBLASTICĂ)

DEFICIENTA DE VITAMINA B

Aspectele biochimice şi nutriționale ale vitaminei B_{12}

Molecula de vitamina B12 are o structura asemănătoare hemoglobinei, formata dintr-un macroinel porfirinic, centrat pe un atom de cobalt de care este legată o grupare de tip adenozinic şi o grupare cian, pentru cjancobalamină, sau hidroxi-, pentru hidroxicobalamina - cele doua forme stabile, folosite ca medicament. Coenzimele active la nivel celular sunt metilcobalamina şi 5-dezoxiadenozilcobalamina.

Mecanismele biochimice care stau la baza manifestărilor clinice din deficienta de vitamina B12 (anemie, neuropatie periferică şi degenerescenta subacută a cordoanelor posterioare ale măduvei spinării) sunt inca insuficient cunoscute. La om, au fost identificate doua reactii dependente de vitamina B12:

1) Sinteza metioninei din hemocisteină - o reacție care necesită nu numai metilcobalamina si o coenzima, N^5-metil-tetrahidrofolat.

2) O etapă in catabolismul propionatului: transformarea metilmalonil-CoA in succinil-CoA.

Relaţiile între funcţiile vitaminei B12 şi consecintele metabolice ale deficienţei acestei vitamine nu au fost bine stabilite, dar este evident că sunt perturbate sinteza ADN şi sinteza mielinei. In sinteza ADN au fost propuse pentru vitamina B12 doua roluri posibile:

a) Ipoteza „capcanei" metilitetrahidrofolatului (vezi fig. 6.1.) care sustine ca perturbarea sintezei ADN este consecutiva afectării metabolismului folatilor. Ca o consecinţă a perturbării reacţiei 1) N^5-metiltetrahidrofolatul nu poate fi transformat in tetrahidroʃolat şi va fi sechestrat în această formă. Apare astfel o deficienta a coenzimei necesare pentru sinteza acidului timidilic, datorita scaderii disponibilitatii 5, 10-metilentetrahidroʃolatului.

b) Vitamina B12 ar putea avea un rol în conversia ribonucleotidelor în dezoxiribonunucleotide.

Transformarea dezoxiuridilatului in timidiat constituie o etapa esentiala in sinteza ADN; când aceasta etapă este alterată apare hematopoieza megaloblastica.

Metionina este necesara atât pentru producerea de colină si fosfolipide ce conţin colina, cât și pentru metilarea proteinei bazice a mielinei. Ca o consecinta a afectarii reacţiei 2 se acumulează în tesuturi metilmalonil-CoA şi precursorul sau propionil-"COA, cu formarea unor acizi grasi anormali, cu număr neobişnuit de atomi de carbon care vor fi incorporati in lipidele neuronale. Astfel, vor fi explicate manifestinile neurologice din deficienta de vitamina B12 care nu sunt influenţate prin administrarea de acid folic. In deficienta de vitamina B12, excretia urinara de metilmalonat depaseste 300 mg/zi (valori normale: 9 mg/24 ore).

O alıă reactie de interes clinic este degradarea produsului de metabolism al histidinei, acidul formiminoglutamic, în prezența tetrahidrofolatului. Interferenta cu acest sistem de catabolizare nu are efecte morbide, dar poate fi folosită ca test de diagnostic pentru deficienta de folati. Când tetrahidrofolatul este in cantitate insuficientă pentru a accepta gruparea formimino, acidul formimino-glutamic (FIGlu) se acumulează în urina, unde este detectat cu uşurinta.

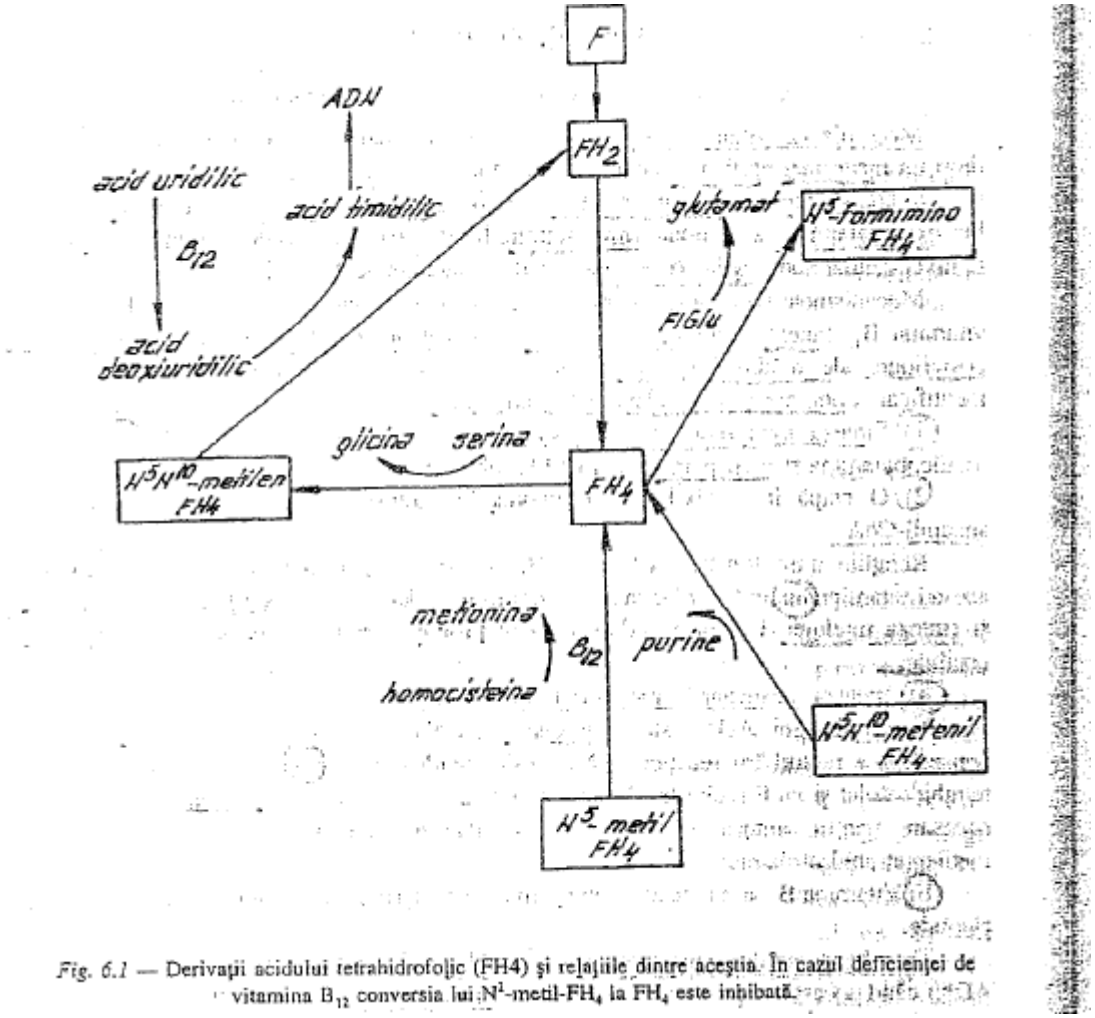


Fig. 6.1 — Derivații acidului tetrahidrofolic (FH4) și relațiile dintre aceștia. În cazul deficienței de vitamina B_{12} conversia lui N^1-metil-FH_4 la FH_4 este inhibată.

Fig. 6.1 – Derivatii acidului tetrahidrofolic (FH4) si relatiile dintre aceştia. In cazul deficientei de vitamina B_{12}

conversia lui N_1-metil-FH_4 la FH_4 este inhibata

Vitamina B_{12} nu este prezenta in plante, fiind in intregime produsa de bacterii. Ierbivorele obţin vitamina B12 în special prin sinteza acesteia de către, bacteriile din rumenul lor, alte animale şi omul işi asigură necesarul prin consumul de carne. Cantitatea medie de vitamina B12 intr-o dietă normală este de aproximativ 5 ug/zi.

Dintr-un microgram de vitamina B12 continut în carne, un procent de 70 este absorbit intestinal. Dacă proporția de vitamina B12 din alimentatie este crescuta, absorbtia intestinală scade proportional. Cantitatea maxima de vitamina B12 care poate fi absorbită la o singură masa este de 2-3ug.

Pentru absorbția acestei vitamine este necesară combinarea obligatorie cu Factorul intrinsec. Acest factor are rolul de a transporta vitamina B12 la nivelul celulelor epiteliale din jumatatea distala a intestinului subtire.

Factorul intrinsec (Castle) este sintetizat de aceleaşi celule care produc acidul clorhidric, respectiv celulele parietale gastrice, din corpul si fundul stomacului. Din punct de vedere chimic, factorul intrinsec este o glicoproteina cu greutatea moleculară 44 000; fiecare molecula de factor intrinsec din sucul gastric poat fi estimată indirect, prin măsurarea cantităţii de vitamina B12 pe care o poate lega. Nivelul secretiei zilnice, in absenţa oricărui stimul, este de ordinul a 70 000 unităţi. Secretia bazala de 3 000 unităţi/ora poate creşte de 3-5 ori dupa administrarea unor substanje stimulante ale celulelor parietale, cum ar fi histamina si gastrina. Cantitatea de vitamina B12 necesară a fi absorbită zilnic, pentru mentinerea depozitelor din organism, este de 1-3 ug şi doar 1000 - 3000 de unitati de factor intrinsec sunt necesare pentru absorbția acesteia. Se poate

observa că factorul intrinsec este produs zilnic intr-o cantitate excesivă, faţă de cea necesară pentru absorbția vitaminei B12. Cantitatea minimă de vitamină B12 care trebuie obligatoriu absorbita zilnic pentru mentinerea starii de sănătate este mai mica de 0,5 ug.

După absorbţia intestinală, vitamina B12 ajunge in plasmă unde este in intregime legată de proteinele plasmatice denumite transcobalamine. Există trei tipuri maiere de astfel de proteine (transcobalaminele I, II, III) care previn pierderea vitaminei prin urina, transpiratie si alte secretii ale organismului. Valorile normale ale vitaminei B12 din plasmă sun 175-725 ug/ml (in funcţie de laborator şi metodele folosite).

Vitamina B12 este depozitata in ficat, cantitatea stocata fiind de 3-5 mg la un adult normal. Pierderea acestei vitamine se produce prin urina, materii fecale, descuamarea celulelor epiteliale şi excreţia biliară.

Rata de pierdere zilnică a vitaminei B12 este de aproximativ 0,05-0,1 % din cantitatea existenta in organism. Din acest motiv, există o perioada de latensa de 2 ani sau mai mult până la aparitia unei boli legate de deficienta acestei vitamine si reducerea depozitului la un nivel minim (posibil in jurul valorii de 300-500 ug), care determină anemie megaloblastica.

Neuropatia indusa prin deficienta de vitamina B12

Pacientii cu deficit de vitamina B12 pot prezenta leziuni degenerative ale sistemului nervos. Modificarile patologice cele mai frecvente sunt următoarele:

1) Neuropatia periferică
2) Degenerescenţa subacută combinată a cordoanelor medulare
3) Demielinizarea focala a substantei albe din creier.

In degenerescenta subacuta combinată a cordoanelor medulare exista o afectare parcelară a cordoanelor posterioare şi laterale, in special la nivelul segmentelor cervicale inferioare şi toracice superioare. Termenul de degenerescență subacuta a măduvei este impropriu, deoarece debutul simptomelor este de obicei insidios sau subacut, leziunile cordoanelor posterioare şi laterale pot apărea separat sau combinat, iar sindromul poate asocia şi leziuni ale emisferelor cerebrale, precum şi ale nervilor periferici.

De obicei, in stadiul initial, simptomele şi semnele afectează simetric membrele inferioare. Cele mai comune simptome sunt paresteziile şi slăbiciunea musculară. Alți pacienți pot prezenta ataxie, impotență sexuală, pierderea controlului vezicii urinare si al sfincterului anal. O oarecare pierdere a memoriei, o depresie usoară, iritabilitate, apatie, labilitate emotională sunt aspecte relativ comune, dar bolnavii pot prezenta şi simptome psihiatrice grave: stupoare, halucinații, paranoia, depresie severa, psihoza maniacala. Dupa administrarea parenterala de vitamina B12 o parte din aceste simptome pot să se amelioreze şi starea mentala a pacienţilor se poate îmbunatati.

La examenul neurologic, este uneori dificil a diferentia nevritele periferice de leziunile cordoanelor posterioare, deoarece in ambele cazuri reflexele osteotendinoase, sensibilitatea vibratorie şi mio-atrokinetice sunt diminuate, iar ataxia este prezentă. Totuşi, hiperalgezia muşchilor gambieri pledează pentru nevrita periferica, iar alterarea sensibilitatii profunde cu menţinerea sensibilităţii superficiale (sindrom pseudotabetic) exprima afectarea cordoanelor posterioare.

Leziunile cordoanelor laterale ale măduvei spinării se manifesta printr-un sindrom piramidal cu parapareza spastica, exagerarea reflexelor osteotendinoase, prezenta semnului Babinski.

Nevrita optica este foarte rara, cu tulburari de perceptie a culorilor.

Exista situații în care leziunile neurologice nu sunt însoțite de anemie, dar examenul măduvei osoase indică modificari megaloblastice uşoare.

Cauzele deficientei de vitamina B12

Cauzele deficientei de vitamina B12 sunt sintetizate in tabelul VI-1.S

Tabelul VI-1

Mecanismele si cauzele deficientei de vitamina B12

Aport insuficient
Vegetarianismul

Secretie inadecvată de factor intrinsec
Anemia pemicioasa Biermer
Gastrectomie parţială sau totala
Deficit congenital de factor intrinsec (rara)

Consum crescut de vitamina B12
Flora intestinala anormala
Diverticuli jejunali multipli, sticturi intestinale, sindrom de ansa oarba
Infestarea cu Diphyllobothrium laum (botrioceſal)

Malabsorbtie
Boala Crohn, sprue tropical, rezecțiile ileale, malabsorbtie congenitala selectiva a vitaminei B12 asociata cu proteinurie (sindromul Imerslund Grusbeck)

Aportul insuficient de vitamina B12. Vegetarianismul

Deficienta de vitamina B12 care rezulta dintr-un conţinut scazut al acesteia în dietă, apare doar la persoanele care nu consumă deloc proteine animale (strict vegetariene). Deşi nu există vitamina B12 în plante, dieta vegetariană conține probabil o cantitate mică de vitamina ca urmare a contaminării bacteriene. Nivele joase de vitamina B12 sunt prezente la 50 % din vegetarieni, totuşi cea mai mare parte a acestora sunt sănătoși. O mică parte din vegetarieni prezintă anemie megaloblastică sau manifestări neurologice. *Secretia inadecvată de factor intrinsec este un alt factor.*

Anemia pernicioasă (Biermer)

Etiologie și patogeneza

Anemia pernicioasa este o afectiune caracterizata printr-o absorbtie deficitara a vitaminei B12 datorită unei secreţii inadecvate de factor intrinsec, secundara unei gastrite atrofice sau unei atrofii gastrice. Secretia bazala de factor intrinsec este redusă la 0-200 unitati/oră şi nu este influentata de stimulenţi ca histamine. Deficienta de vitamina B12 conduce la anemie megaloblastică, manifestări neurologice sau ambele. Boala a fost pentru prima dată descrisă de Thomas Addison, la spitalul Guy din Londra, în 1849. Termenul de anemie pernicioasă a fost introdus de Biermer în 1872. Un procent de 20% din pacienti prezinta in familie un caz de anemie pernicioasă, sugerând că factorii genetici ar avea un rol important în apariția acestei boli. Se presupune că indivizi cu defect genetic ar avea o susceptibilitate pentru dezvoltarea unei atrofii gastrice pe parcursul vietii. In anemia Biermer, anticorpii anticelula parietala gastrică sunt prezenti 85% din bolnavi. Mai mult, anticorpii antifactor intrinsec pot fi evidenţiaţi în serul pacienţilor, in 55 % din cazuri, iar in sucul gastric într-un procent de 60%. Totusi, faptul că aceşti anticorpi nu pot fi detectati in toate cazurile, asociat cu observația că o parte din bolnavii cu disfuncţie tiroidiană prezintă anticorpi anti-factor intrinsec in ser, dar nu au deficienţă de vitamina B12, sugerează că aceşti anticorpi prezintă cauza primara a atrofiei gastrice,fiind mai curând o consecinta a acesteia. Pe de alta parte, este posibil ca atrofia gastrică să fie rezultatul unor reactii imune mediate celular, declanşate împotriva celulelor parietale precum şi a altor celule gastrice.

S-a constatat çă, uneori, anemia pernicioasă se asociază cu alte boli cum ar fi: diabetul zaharat, boala Graves, mixedemul, vitiligo.

Toti pacienții cu anemie Biermer au o leziune gastrica, care variază de la o gastrita atrofică severă pana la atrofie gastrica. Deoarece atât factorul intrinsec cat şi acidul clorhidric sunt produse

de aceeasi celula, (celula parietala), anemia pernicioasă se asociaza obligatoriu cu o aclorhidrie rezistenta la histamina şi pentagastrină. Astfel, diagnosticul acestei afectiuni devine improbabil daca se descoperă cantitati apreciabile de acid clorhidric in sucul gastric. Totusi, anemia Biermer nu este prezenta in toate cazurile de gastrită atrofică şi aclorhidrie deoarece indivizii cu aceste anomalii continua sa secrete, probabil, cantitati mici de factor intrinsec, suficiente insa pentru a asigura o absorbție adecvtă de vitamina B12.

In anemia Biermer, pe langa productia deficitara de hematii şi leziunile nervoase, sunt afectate și alte celule din organism, care au o rată înaltă de diviziune, de la nivelul tractului gastrointestinal (de la limbă până la colon), pielii, ovarelor etc. Anemia severă poate complica o afectiune cardiacă preexistentă.

Aspecte clinice

Anemia megaloblastică de tip Biermer este mai frecventă la populația din nordul Europei: prevalenta acestei boli creşte cu vârsta, ajungând la un procent de 1 la persoanele intre 70 şi 79 de ani. Afectiunea este de1,5 ori mai frecventa la femei decat la barbati.

Debutul bolii este insidios. Simptomele cu care pacientul se prezintă la medic sunt prezentate in ordinea frecvenţei in tabelul VI-2.

Simptomatologie la debut a anemiei Biermer Tabelul VI-2

Simptome de anemie	58%
Parestezii	13%
Tulburari gastro-intestinale	11%
Arsuri ale limbii	7%
Scadere ponderala	5%
Dificultati la mers	3%
Alte simptome	3%

Dintre tulburările gastro-intestinale mentionam: anorexie, greată, voma, dispepsie, constipatie. Limba prezintă modificări caracteristice: roşie, depapilata, neteda, cu un luciu sticlos, dureroasa, uneori ulcerata (glosita Hunter). Unii pacienţi pot prezenta stare subfebrilă, hiperpigmentare la nivelul mainilor (rar); splenomegalie usoara.

Tegumentele sunt palide, cu o uşoară tentă subicterica (datorita hemolizei intramedulare cu creşterea bilirubinei indirecte, aspre, uscate. Părul şi unghiile sunt friabile.

S-a constatat o incidenţă crescută a cancerului gastric la bărbaţii cu anemie pernicioasa.

Date de laborator

Tabloul hematologic este identic cu cel prezentat la hematopoieza megaloblastica. Valorile hemoglobinei pot fi in limite normale la pacientii diagnosticati precoce, dar se reduc progresiv, pe masura ce deficienta de vitamina B12 se accentuează. Dacă anemia Biermer nu este asociata cu o talasemia minora sau o deficientă de fier, volumul eritrocitar mediu (VEM) este crescut. Maduva osoasa este hipercelulara, iar in cazurile de anemie severă, aproape toate celulele grasoase medulare sunt inlocuite de celule hematopoietice. Hematopoieza este de tip megaloblastic, cu metamielocite gigante. Pe frotiurile de măduvă colorate Perls, cantitatea de hemosiderina este normală sau chiar crescuta.

In serul pacienților, nivelurile bilirubinei indirecte şi ale lactic-dehidrogenazei (LDH) pot fi uşor crescute, in principal ca urmare a distrucții intramedulare a eritroblaştilor şi mai puțin printr-o hemoliză periferică. Concentraţia plasmatică vitaminei B12 este intotdeauna scăzută. Totuşi,

nivelurile serice scazute ale vitaminei nu trebuie interpretate ca un element sigur de diagnostic al deficienței de vitamina B12, deoarece pot apărea şi la o treime din pacientii cu deficit de folati, la unele femei gravide şi la persoanele varstnice. Un procent de 60 din bolnavii cu anemie pernicioasă prezintă concentratie scăzută a folatilor eritrocitari.

Diagnosticul pozitiv

Anemia megaloblastica de tip Biermer nu poate fi diagnosticata numai pe elemente furnizate de anamneză şi de examenul fizic complet. Davidson (1957) afirmă că nu există nici un simptom sau semn patognomonic pentru diagnosticul de anemie pemicioasa, deoarece astenia, dispneea, paresteziile şi glosita cronica atrofică pot apărea în orice tip de anemie si in special in carenta de fier.

În tabelul VI-3 sunt prezentate principalele teste de diagnostic pentru deficienta de vitamina B12

Teste utile in diagnosticul deficientei de vit.B12 Tabel VI-3

Investigatii	Interpretarea rezultatelor
Indici eritrocitari	VEM crescut
Frotiu de sange periferic	Macro-ovalocite, hipersegmentarea granulocitelor neutrofile
Frotiu de maduva osoasa	Megaloblasti, metamielocite gigante
Concentratia serica de vitamina B12	Scazuta
Nivelul folaților eritrocitari	Normal sau scazut
Analiza dietei	Absenta proteinelor animale in dieta vegetarienilor
Testul Schilling pentru absorbţia vitaminei B12	Anormal in anemia Biermer, afectiunile ileonului terminal in sindromul de ansa “oarba"
Tranzit baritat gastrointestinal	Modificari radiologice ale intestinului subtire in sindromul de ansa “oarba" şi in afectiunile ileonului terminal
Nivelul factorului intrinsec in sucul gastric	Foarte scazut sau absent in anemia Biermer

Pentru a stabili cu certitudine diagnosticul de anemie pernicioasa, este necesară evidentierea unui nivel scăzut sau absent al factorului intrinsec în sucul gastric. De obicei, această apreciere se face indirect prin intermediul testului Schilling (Schilling 1953). Acest test măsoară capacitatea individuala de absorbţie a ciancobalaminei administrata oral. Intr-o prima etapă se administrează pacientului o doză orala de 1 ug de ciancobalamina marcată cu Co concomitent cu injectarea intramusculara a 1 000 ug de ciancobalamina neradioactiva. Cantitatea de vitamină B12 administrată intramuscular va satura proteinele plasmatice transportoare, având drept consecință excreția unei proporții mari de ciancobalaminä radioactiva in urina. Absorbtia vitaminei B12 este considerată deficitara, daca excreția urinară pe 24 de ore a ciancobalaminei radioactive este mai mica de 10 % din doza administintă oral. In anemia Biermer, excreţia urinară este, de obicei, sub 5%. Dacă testul este anormal, se efectuează a doua etapă, care constă in administrarea orala de factor intrinsec si de ciancobalamină marcata radioactiv; daca deficienta vitaminei B12 se datorează unui nivel scazut de factor intrinsec, absorbţia intestinală va imbunătăţită (dar nu readusa la normal). Acest test furnizează informaţii certe referitoare la mecanismul major al deficientei de vitamina B12.

Metoda directa de diagnostic în anemia Biermer consta in masurarea nivelului factorului intrinsec in sucul gastric. Deoarece necesită o tehnica laborioasă, este preferat testul Schilling, mult mai uşor de efectuat.

Tratament

Tratamentul pacientilor cu anemia Biermer consta, in principal, din administrarea vitaminei B12 în injecţii intramusculare, după urmatoarea schema:

- in primele două săptămâni, se administreaza zilnic 100 ug
- in continuare, se administrează 100 ug de 2-3 ori pe săptămana, până la două luni
- doza de întreţinere este de 50-100 ug i.m. o data pe lună sau la trei luni (in funcţie de valoarea hemoglobinei), pe tol parcursul vieţii.

Dacă exista manifestări neurologice severe, se administreaza 1000 ug/doză.

Răspunsul la vitamina B12 este prompt. Transformarea normoblastica maduvei debutează la 8 ore de la prima injecție şi este completă după două zile. Imediat după inceperea tratamentului, starea generală a bolnavului se amelioreaza, creşte apetitul, se atenuează uscăciunea gurii. Dupa 2-3 zile apare criza reticulocitara cu un varf la 5-7 zile (vezi figura 6.2). Concomitent creşte masa bematiilor si volumul plasmatic. Valoarea hemoglobinei creşte cu 1 g pe săptămana, cu dispariția anemici in 6-8 saptamani. Trombocitopenia (dacă este prezenta) se corectează in circa 10 zile, iar leucopenia in doua saptămani. Răspunsul hematologic poate fi micsorat si intarziat in prezenţa unei deficiente de fier, a bolilor renale, a hipotiroidismului, a cancerului, a unor infectii active, ca şi in cazul abuzului de bauturi alcoolice. Complicatiile neurologice recente (cu durata mai mica de trei luni) dispar, de regulă, în cateva săptămani, dar cele vechi sunt greu influențate, atenuandu-se după câteva luni de tratament. Spasticitatea poate fi ireversibila.

Trebuie mentionat că, in a doua saptamana de tratament, poate apărea o criza de hipocromie severă, explicată de faptul că refacerea cantității de hemoglobină în prezenja vitaminei B12 necesita un consum de fier, spoliind depozitele acestuia din organism (posibil reduse datorită varstei inaintate sau asocierii unor boli cronice). Se impune astfel administrarea suplimentară a unor preparate cu fier. De asemenea, în formele grave de anemie, efectul terapiei cu vitamina B12 poate fi insoţit de scaderea kaliemiei, ca urmare a pătrunderii potasiului in celule. Hipokaliemia trebuie obligatoriu tratată, deoarece există riscul unor aritmii cardiace severe.

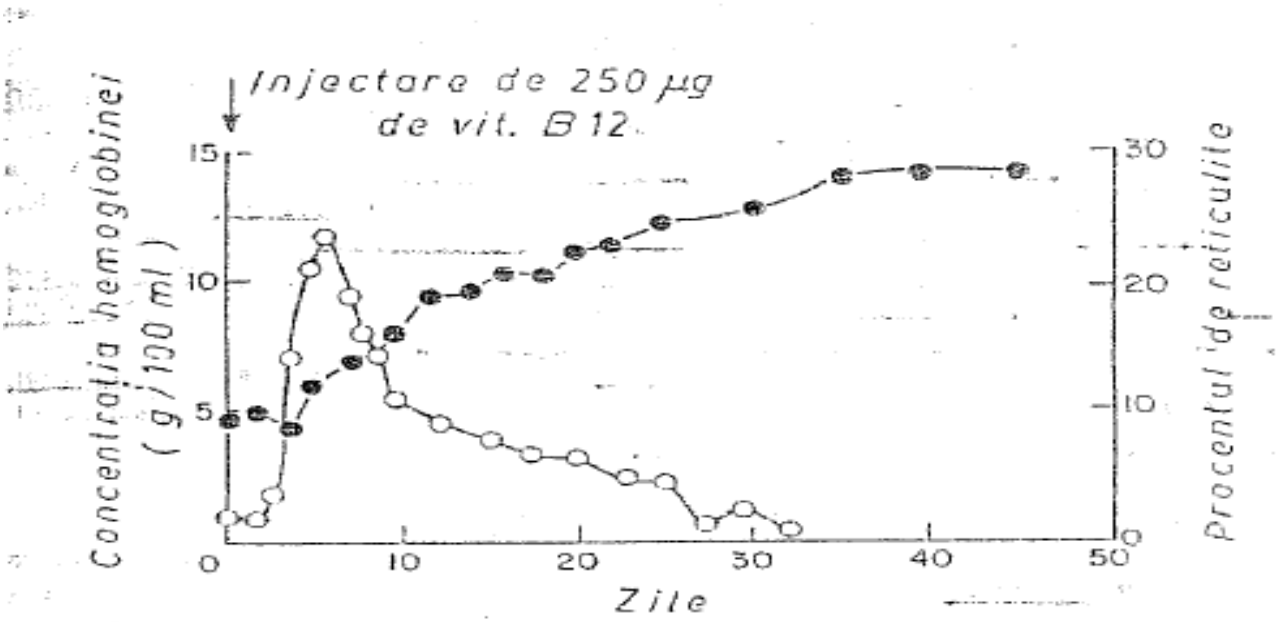


Fig. 6.2 — Răspunsul la tratamentul cu vitamina B_{12} în anemia Biermer.

La tratamentul cu vitamina B12 se asociază acidul folic, administrat oral sau parenteral. Tratamentul anemiilor megaloblastice prin deficienţa de vitamina B12 exclusiv cu acid folic, constituie o greşeală: tulburările hematologice sunt corectate, dar evoluţia simptomelor neurologice continuă şi uneori apar brusc tulburari severe, in condiţiile in care deficitul vitamine specific este mascat.

Preparatele de vitamina B12 sunt obişnuit foarte bine tolerate. Administrarea parenterala este rareori cauza de reacţii alergice, eruptii cutanate, exceptional soc anafilactic. Antecedentele de acest fel impun testarea prealabilă a sensibilităţii, prin injectarea intradermică de doze mici de vitamina.

Complicaţiile cardiace trebuie tratat prompt. Ori de cate ori este posibil, transfuziile de sânge trebuie evitate, deoarece pot precipita sau agrava insuficienta cardiacă. In caz de anemie severă, se administreaza masa eritrocitară si nu sange integral.

Gastrectomia totală sau parţială

Anemia megaloblastica datorită deficienţei de vitamina B12 se dezvoltă după 2-10 ani de la gastrectomia totala; perioada de latenta depinde de rezervele preoperatorii de cobalamina. Deficienta poate aprea şi după gastrectomia partiala, dar la un interval de cel putin 5 ani, ca urmare a indepărtării celei mai importante regiuni gastrice, răspunzătoare de secretia factorului intrinsec şi, in mica măsura, datorită atrofiei mucoasei restante.

Consumul crescut de vitamina B12
Flora bacteriană intestinală anormală

Anemia macrocitara apare frecvent la pacienţii care prezinta modificari anatomice ale intestinului subtire (anse “oarbe", fistule, diverticuloze, anastomoze, stricturi) cu staza consecutivă şi poluare bacteriană (proliferare excesivă a bacteriilor din flora intestinală). Multe dintre aceste bacterii captează vitamina B12
şi o transforma in compuşi inactivi, cu scaderea disponibilităţii pentru absorbtie.

Acest tip de anemie megaloblastică nu este insoţit de o deficienţă de acid folic. De fapt, acidul folic poate fi sintetizat de populatia bacteriană dezvoltată excesiv, astfel că nivelul folatilor eritrocitari este crescut.

Pacienţii respectivi au un test Schilling pentru absorbția vitaminei B12 anormal, care nu se corectează prin administrarea de factor intrinsec ci prin antibiotice, cu spectru larg care suprima flora bacteriana.

Infestarea parazitară

Consumul crescut de vitamina B12, in intestinul subțire, se poate datora infestării cu botriocefal (Diphyllobothrium latum), un parazit al pestilor, care a fost frecvent intalnit in Finlanda, dar astăzi este foarte rar.

Malabsorbtia vitaminei B12

Malabsorbția vitaminei B12 ca urmare a afectării ileonului terininal, poate apărea în boala celiaca, ileita Crohn, rezecţii ileale şi în sprue cronic, tropical. In ultima situatie, deficienta de vitamina B12 este asociată cu un deficit de folati.

Malabsorbtia familial selectiva de vitamina B2 (sindromul Imerslund) debutează în copilărie şi se însoţeşte de proteinurie persistenta. Mecanismul ipotetic ar consta in absenta receptorilor ideali pentru vitamina B12.

DEFICIENTA DE ACID FOLIC

Aspectele biochimice şi nutriţionale ale folaţilor

Biochimie. Acidul folic (acidul pteroilmonoglutamic) este alcatuit din trei structuri: nucleul pteridinic, acidul p-aminobenzoic şi acidul glutamic (vezi fig. 6.3). Pentru a deveni activ din punct de vedere biochimic, acidul folic trebuie redus intr-o primă etapa la acidul dihidrofolic şi apoi la acidul tetrahidrofolic (reducerea are loc in prezenţa dihidrofolat-reductazei).

Derivaţii naturali ai folaţilor conţin o singura unitate de carbon, in diferite stări de reducere (metil, formil, metilen). In timp ce folatul prezent in ser este sub formă de 5-metiltetrahidroʃolat monoglutamat, folatii intracelulari sunt pteroilpoliglutamat.

Formele active ale folaţilor au functie de coenzime in procesele de transfer al unei unitsți de carbon din cadrul metabolismului aminoacizilor, cat pentru sinteza purinelor şi pirimidinelor, necesare formarii de ADN si ARN. Astfel, 5.10-metilentetrahidrofolatul participă la metilarea deoxiuridilatului in timidilat perturbarea acestei reactii sta la baza anomaliei de sinteză a ADN si a transformarilor megaloblastice caracteristice deficientei de folati.

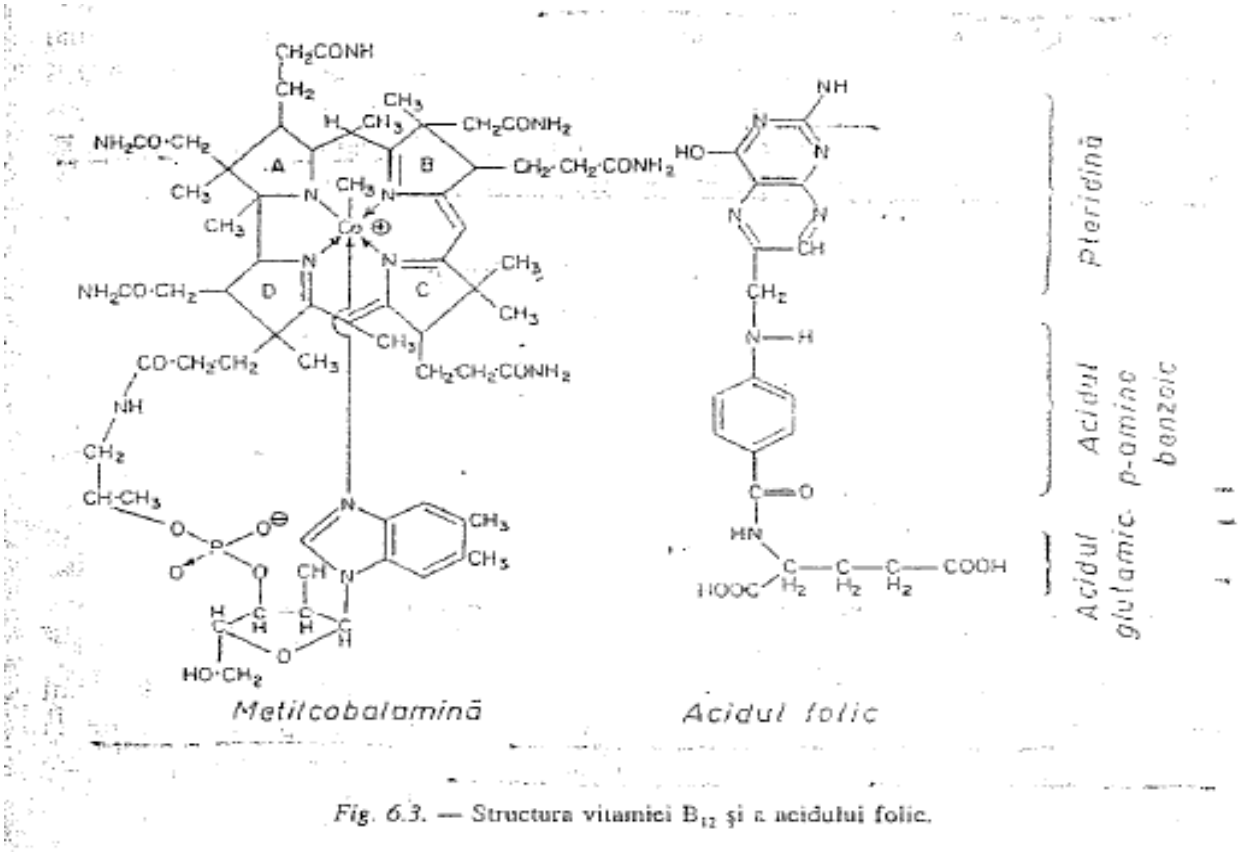


Fig. 6.3. — Structura vitaminei B_{12} şi a acidului folic.

Folaţii în dietă. Folatii se găsesc atat in alimentele de origine animala, cat şi in cele de origine vegetala. O dietă zilnică obişnuita confine aproximativ 400 ug de folati. Conţinutul de folaţi din dieta este influenţat de procesele de preparare a alimentelor, astfel, conservarea sau fierberea excesiva distrug cesti compusi Aproximativ 80 din doza orala de 200 ug de acid pteroilglutamic este absorbita intestinal. Pentru derivaţii poliglutamati, procentul cantităţii absorbite este mai mic. Pentru un adult normal, cantitatea minima de folaţi necesară a fi absorbita zilnic este de 100-200 ug. Necesarul creste in cursul sarcinii si lactatiei.

Absorbţia. Absorbția are loc in principal la nivelul duodenului şi jejunului.
Poliglutamatii din dietă sunt convertiți in monoglutamati sub actiunea unei enzime - folat conjugaza - iar monoglutamatii sunt transformati de către enterocite in 5-metiltetrahidrofolat monoglutamati, inainte de a ajunge in circulatia portala.

Depozitarea și rata pierderii de folati. Rezerva hepatică de folați este in mod normal mai mare decat cea de vitamina B12, fiind de 8-20 mg.

Pierderea folatilor se produce prin descuamarea zilnică a celulelor epiteliale din piele și tractul intestinal, cat şi prin bila, urină, transpiraţie şi salivă. De asemenea, folatii se consumă prin catabolismul intracelular. Rata zilnică a pierderii este, de aproximativ 1-2 % din rezervele totale heputice, valoarea ei find de 10-20 uri mai mare decat cea a vitaminei B12. Deoarece cantitatea minima de folati necesară a fi absorbita zilnic este de 100 de ori mai mare decat cea a vitamine B12, iar turnover-ul folatilor este mult mai mare, simptomele şi semnele deficientei de folati se dezvolta mult mai rapid decat cele ale deficientei de vitamina B12.

Cauzele deficienţei de folaţi

Sunt prezentate schematic in tabelul VI-4.

Cauzele deficientei de folati **Tabelul VI-4**

Dieta inadecvata

Malabsorbtie
Boala celiaca, rezectii jejunale, sprue tropical

Necesitati crescute
Sarcina, prematuri, anemii hemolitice cronice, mielofibroză, variate boli maligne

Dieta inadecvata. Anemia megaloblastica datorată unui aport insuficient de folaţi apare la persoanele cu conditii materiale precare sau cu boli psihice severe, la varstnici, alcoolici cronici, precum şi la sugarii hrăniti cu lapte de capra, care are un conținut redus de folaţi (anemia laptelui de capra).

Malabsorbţia. Deoarece folatii sunt absorbiti in porţiunea superioară a intestinului subţire, bolile care afectează această regiune anatomica (boala celiaca, sprue Tropical) pot determina anemie megaloblastica prin deficit de folaţi. Rezectiile jejunale pot fi de asemenea urmate de anemie megaloblastica.

In sindroamele de malabsorbtie, deficienţa de folaţi este asociata cu carenta de fier, datorita incalzirii comune a procesului de absorbtie.

Necesităţi crescute. Deficienţa de folati şi anemia megaloblastică se pot dezvolta atunci cand necesitatile crescute de aceşti compuşi nu sunt asigurate de o dietă şi absorbtie adecvata. Necesarul mare de folaţi poate rezulta din cresterea sintezei de acizi nucleici (sarcina şi anemie hemolitică cronică) sau din cresterea pierderilor de folati (infectii cu febră persistenta, boli asociate cu descuamarea pielii, cum ar fi psoriazisul).

Anemia megaloblastică din sarcină. Inainte de administrarea suplimentara de acid folic in cursul sarcinii, anemia macrocitară prin deficit de folaţi era intalnita la 0,5-5 % din femeile gravide, in tarile dezvoltate.

Diagnosticul este stabilit de obicei după săptămana 36 de sarcină sau in prima lună postpartum.

Cauza principală a deficienţei de folati in sarcină este reprezentată de cresterea sintezei de ADN şi ARN, asociată cu dezvoltarea fatului, placentei si uterului, precum și cu expansiunea masei eritrocitare a mamei. A fost calculat că necesarul de folaţi creste de aproximativ 3 ori in decursul unei sarcini normale. Pot interveni si alti factori: anorexia, reducerea absorbtiei de folați in timpul sarcinii si cresterea necesarului favorizată de infectiile urinare frecvente.

Diagnosticul deficienţei de folati

Tabloul hematologic al deficientei de folati include: macrocitoza cu sau fara anemie, hipersegmentarea granulocitelor neutrofile şi hematopoieza megaloblastica. Pentru a stabili că aceste modificări aparțin deficientei de acid folic, este necesara aprecierea depozilelor_de_folati din organism, prin masurarea nivelului folaţilor eritrocitari. Determinarea concentraţiei plasmatice a folaţilor are valoare mai mica deoarece este rapid influentat de balanţă negativa a acestor compuşi, chiar de scurtă durată. Totuşi, concentrația scăzută a folaților eritrocitari nu este un element sigur de diagnostic, deoarece poate apărea, intr-un procent de 60 şi la pacienţii cu deficit de vitamina B12. De aceea, în practică, diagnosticul deficienţei de folaţi impune atât demonstrarea unui nivel scazut al acestor compusi in hematii, cat si excluderea unei deficiente de vitamina B12 (nivelul plasmatic normal vitaminei B12, test Schilling normal).

Diagnosticul este confirmat prin răspunsul favorabil la tratamentul cu acid folic.

Cauza deficientei de folati este determinată printr-o anamneză amanuntita referitoare la dietă şi prin explorarea funcției intestinului subtire (inclusiv biopsia jejunala).

Tratamentul deficienţei de folaţi

La un adult cu anemie macrocitară prin deficit de folati se administrează zilnic 5 mg acid folic, pe cale orală. Durata tratamentului depinde de boala de bază, fiind de cel putin trei luni. Criza reticulocitara este maxima la 5-7 zile de la inceputul tratamentului. Valoarea hemoglobinei trebuie urmatita pana ajunge la limitele normalului, deoarece o parte din pacienți, in special cei cu sindrom de malabsorbtie, pot asocia o deficienţă suplimentară de vitamina B12 şi fier, care poate fi detectată printr-o creştere insuficienta nivelului de hemoglobina.

AFECTAREA METABOLISMULUI VITAMINEI B12 ŞI AL FOLATILOR

Oxidul nitros (N_2O) perturbă metabolismul vitaminei B12 prin oxidarea şi inactivarea metilcobalamina. Expunerea continua a pacientilor la un amestec de 50 % N_2O şi 50 % O_2, pe o perioadă de 5-24 ore, induce deseori modificări megaloblastice uşoare in maduva osoasă. Expunerea intermitentă la N_2O, perioade lungi de timp, poate determina o neuropatie la stomatologii care lucrează cu acest gaz.

Medicamentele care inhibă dihidrofolat-reductaza (Methotrexat si Primetamina) cauzează macrocitoza şi modificări megaloblastice, prin interferarea regenerării 5,10-metilentetrahidrofolatului din dihidrofolat.

Hematopoieza megaloblastică apare foarte rar in anomalii congenitale ale metabolismului vitaminei B12 si al folaților (deficiente enzimatice).

CAUZE DE HEMATOPOIEZA MEGALOBLASTICĂ INDEPENDENTE DE VITAMINA B12 ȘI DE FOLAȚI

Sunt prezentate in tabelul VI-5.

Medicamentele menţionate interferează cu sinteza acizilor nucleici. Aciduria orotica este o boală ereditara rara in care anemia megaloblastică apare ca urmare a reducerii activitatii unor enzime implicate in transformarea acidului orotic in uridin-monofosfat.

Cauze de hematopoieză megaloblastica independenta de vitamina B12 şi de folati Tabel VI-5

Anomalii in sinteza acizilor nucleici
Medicamente
Analogi ai purinelor (inercaptopurine, azatioprina)
Analogi ai pirimidinelor (fluorouracil, citarabina)
Altele (hidroxiureea, ciclofosfamida)
Aciduria orotica
Etiologie incerta
Sindroame mielodisplazice, eritroleucemia
Unele anemii congenitale diseritropoietice

MACROCITOZA ASOCIATĂ CU ERITROPOIEZA NORMOBLASTICĂ

Dintre conditiile prezentate in tabelul VI-6, alcoolismul cronic este cel mai frecvent asociat cu macrocitoză.

Tabel VI-6

Cauze de macrocitoza cu eritropoieza normoblastica

Nou-nascuți (macrocitoza fiziologica)
Alcoolism cronic *
Boli hepatice cronice *
Anemie hemolitică*
Hipotiroidism *
Medicamente anticonvulsivante *
Sarcina normala
Boli pulmonare cronice (cu hipoxie)
Anemia sideroblastica dobindita idiopatica *
Anemia aplastica

* Unii pacienţi prezinta eritropoieza megaloblastica

Alcoolismul cronic. S-a constatat că prevalenta macrocitozei, independenta de lipsa vitamina B12 sau a folaţilor, este destul de mare, iar majoritatea indivizilor cu această anomalie a hematiilor consumă cantităţi excesive de alcool. Se pare că nivelul consumului de alcool care induce macrocitoza suferă variatii individuale considerabile.

Deşi unii alcoolici cronici prezintă deficienţe de folați printr-un aport insuficient, majoritatea nu au deficienta de vitamina B12 sau folaţi, nici anemie. Cand depozitele de folaţi sunt normale, eritropoieza eşte normoblastică. S-a formulat ipoteza că macrocitoza s-ar datora unui efect toxic al acetaldehidei pe eritroblast. Acetaldehida este probabil generata local, prin oxidarea etanolului, în prezenta macrofagelor medulare. Valorile volumului mediu eritrocitar (VEM) revin la normal, în decurs de 2-3 luni de la intreruperea ingestiei de alcool.

Anemia hemolitică. Unii pacienti cu anemie hemolitică dezvolta macrocitoză şi hematopoieza megaloblastică prin deficienţa de folaţi. Alţii prezinta macrocitoza printr-un mecanism independent de acidul folic. In ultimul caz, macrocitoza este asociata cu o măduvă osoasa normoblastica şi constituie manifestarea unei eritropoieze mult accelerate. Reticulocitele produse in aceste condiţii sunt mai mari decat cele normale şi se maturizează in macrocite, care difera de macrocitele observate in deficienta de vitamina B12 sau acid folic, printr-un contur mai rotund.

Hipotiroidismul. Atât în hipotiroidism cat şi în anemia pernicioasă pot apărea, cu o frecvenţă crescută, anticorpi antitiroidieni şi anticelula parietală gastrică, iar 10 % din pacienţii cu hipotiroidism au anemie pemicioasă.

Hipotiroidienii pot prezenta macrocitoza independenta de vitamina B12 sau folați, mecanismul său de producere fiind explicat prin deficienta de tiroxina. Aproximativ 1/4 din pacientii cu hipotiroidism (fară anemie pernicioasa asociată) au un VEM peste limitele normalului, care se corectează după administrarea de tiroxina.

Medicamentele anticonvulsivante. Unii pacienti care primesc Fenitoina (asociata sau nu cu alte medicamente anticonvulsivante) pot prezenta macrocitoza, fie cu eritropoieza megaloblastica (prin deficienţă de acid folic), fie normoblastică. În ultimul caz, cauza macrocitozei este necunoscuta.

Capitolul 7
ANEMIA APLASTICĂ ŞI APLAZIA PURĂ A SERIEI ERITROCITARE

ANEMIA APLASTICĂ DOBÂNDITĂ

Anemia aplastică este o afectiune caracterizată prin pancitopenie si reducerea cantității de ţesut hematopoietic din măduva osoasă. Diagnosticul impune excluderea unei alte boli care poate afecta măduva, cum ar fi: leucemia, mielomul multiplu, carcinoamele cu metastaze medulare.

Anemia aplastică este considerată “severă" cand cel putin două din următoarele 3 criterii sunt prezente:

1) Anemie cu un număr corectat de reticulocite;

2) Neutrofile 500/mm^3;

3) Trombocite 20 000/ mm^3;

La aceste criterii se adaugă prezenta obligatorie a maduvei marcat hipoplazice (25% din celularitatea normala).

Anemia aplastică este o boală rară, incidenta ei in Europa fiind de 1-3 cazuri la 100 000 de indivizi.

ETIOLOGIE

In 50 % din cazuri nu poate fi identificat nici un factor etiologic, anemia aplastică dobandita fiind considerată idiopatica. In anumite cazuri s-au identificat medicamente, substante chimice, radiatii ionizate sau unele virusuri.

Majoritatea cazurilor de anemie aplastică secundară rezulta dintr-o reacție idiosincrazică la administrarea de medicamente antireumatice (fenilbutazona, Indometacin, Ibuprofen, săruri de aur), Cloramfenicol şi Co-trimoxazol. De asemenea, sunt implicate, intr-o măsură mai mica, anticonvulsivantele (Fenitoina, Troxidon), antidiabeticele orale (Clorpropamida şi Tolbutamida), Mepacrinul, arsenicalele organice şi percloratul de potasiu. Benzenul este unica substanţa chimică industriala care, dacă este inhalată in doze suficiente, poate induce aplazie medulară. Mai sunt mentionate anumite insecticide, tetraclorura de carbon si trinitrotoluenul.

O mentiune specială se referă la medicamentele citotoxice folosite in tratamentul bolilor maligne. Acestea determina o aplazie medulară, obişnuit reversibilă, a carei severitate depinde de dozele administrate. Dintre agentii citotoxici frecvent implicaţi retinem: Busulfanul, Methotrexatul, Daunorubicina, derivati de nitrozo-uree, 6-mercaptopurina, ciclofosfamida.

Anemia aplastică poate rezulta după o expunere unica la o doză masivă de radiații (bombardamentele atomice, accidentele nucleare). In anii 1950-1960 s-au descris cazuri de anemie aplastică la pacientii cu spondilita ankilopoietică, care urmau sedinte repetate de radioterapie.

Foarte rar, se poate dezvolta o anemie aplastică asociată cu un prognostic sever, la copii şi adulții tineri, după un interval de 10 săptămâni de la o hepatită A sau non A - non B. De asemenea, aplazia medulara este o complicatie rara a infecţiei cu virus Epstein-Barr.

Experimental, s-a constatat ca o parte din pacienții cu anemie aplastica dobandita prezinta limfocite T care inhiba creşterea in vitro a coloniilor hematopoietice autologe şi allogene. Această observaţie, alaturi de răspunsul favorabil la administrarea de globulină antilimfocitară, obţinut în 50 % din cazuri, aduce in discuţie posibilitatea implicării mecanismului imun in etiologia aplaziei medulare, la o parte din pacienţi.

PATOGENIE

Astazi se considera ca pancitopenia şi aplazia medulara sunt consecinta afectarii celulelor stem pluripotente, avand drept rezultat reducerea ratei de diferenţiere a acestora. In unele cazuri, se poate demonstra implicarea unui mecanism autoimun. Este posibil, de asemenea, sa existe un defect la nivelul micromediului din măduva osoasă.

ASPECTE CLINICE

Atat anemia aplastică idiopatică cat şi cea secundară, pot să apara la orice vârstă. Debutul este insidios, mai tar acut. Simptomatologia este reprezentată de:

1) astenie fizică şi psihică, dispnee, datorate anemiei

2) manifestări hemoragice cauzate de trombocitopenie

3) febră și infecții recurente, ca o consecinţă a neutropeniei.

Sindromul hemoragipar include gingivoragii, epistaxis, sangerari la nivelul tractului gastrointestinal şi urinar, echimoze şi peteşii. Severitatea simptomelor depinde de gradul

citopeniei. La pacienţii cu neutropenie şi trombocitopenie severa, infectiile fulminante (pneumonia) şi hemoragia intracerebrală sunt principalele cauze de deces. In anemia aplastica secundara, simptomele pot apărea după cateva saptamani sau luni, mai rar dupa cativa ani, de la intreruperea expunerii la un medicament sau o substanta chimica. Splenomegalia este rar intalnită; când la examenul fizic splina este palpabila, trebuie reconsiderat diagnosticul.

DATE HEMATOLOGICE

De obicei, există o anemie normocroma, normocitara sau macrocitara asociata cu un numar scazut de reticulocite. Numarul de trombocite este obligatoriu mai mic de 100 000/mm^3. Neutropenia şi monocitopenia pot apărea in anumite stadii de boală. Unii pacienti au un număr absolut de limfocite redus.

Nivelurile de eritropoietină serică şi urinară sunt intens crescute.

La examinarea frotiurilor de maduva osoasa se remarcă hipocelularitatea tuturor liniilor hematopoietice. Pot exista unele focare cu celularitate normală sau chiar crescuta, dar pe un fond de hipoplazie medulară. Astfel, chiar la pacientii cu anemie aplastică severă, aspiratul medular poate contine fragmente normocelulare sau hipercelulure, de aceea este obligatorie puncția-biopsie din creasta iliaca.

Unii pacienţi cu anemie aplastică dobandita pot dezvolta un defect de membrana identica cu cel din hemoglobinuria paroxistica nocturna. Ocazional, evoluţia poate culmina cu o leucemie acuta.

DIAGNOSTIC

Diagnosticul de anemie aplastica necesita excluderea celorlalte cauze de pancitopenie (vezi tabelul VII-1).

Cauze de pancitopenie Tabelul VII-1

1) Producţie scăzută de celule sanguine la nivelul maduvei osoase
- Maduva osoasa infiltrată: leucemie aleucemică, mielomul multiplu, carcinome cu metastaze medulare, mielofibroza, tulburari de stocare a lipidelor, boala oaselor de “marmura”
- Deficienta severa de vitamina B12 si sau acid folic, hemoliza intramedulara,
- Anemic aplastică
2) Distructie crescuta a celulelor sanguine in periferie
- Splenomegalie cu fenomene de hipersplenism
- Boala lupica
- Infectii severe
- Hemoglobinuria paroxistica nocturna

PROGNOSTIC

Pacienții cu anemie aplastica au un prognostic destul de rezervat. Aproximativ 15 % dezvoltă o formă gravă, cu deces în primele 3 luni de la diagnostic. Se poate afirma că, in general, 50 % dintre bolnavi decedează după 15 luni de la stabilirea diagnosticului. Doar in 10 % din cazuri se obţine o remisiune hematologică completă. Dacă bolnavul supravietuieste 18 luni, şansele de a se vindeca complet sunt destul de mari (atentie la dezvoltarea in timp a hemoglobinuriei paroxistice nocturne).

TRATAMENT

Daca este demonstrat rolul unui medicament sau a unei substante chimice in producerea anemiei aplastice, expunerea trebuie imediat oprita. Tratamentul suportiv include transfuziile de masă eritrocitară şi antibiotice, administrate numai in momentul cand a fost identificat un germen patogen. Transfuziile de trombocite sunt indicate numai in caz de sindroame hemoragipare grave,

datorita pericolului alloimunizării. Dacă se are în vedere transplantul de măduvă osoasă, transfuziile trebuie reduse la un minimum necesar, deoarece favorizează rejecţia grefei.

Transplantul de măduvă osoasă este indicat la pacienţii sub 40 de ani, care au la debut o anemie aplastică severă (vezi criteriile mentionate). Pacienţii care nu primesc transplant, pot beneficia de tratament cu globulină antitimocitară, androgeni sau steroizi anabolici (Oximetholon), cu risc mai mic de virilizare la femei.

Un procent de 40-50 din bolnavi poate sa raspunda la imunosupresie. Sunt indicate doze mari de Prednison si Ciclofosfamida. Aceasta imunosupresie poate sa preceada efectuarea transplantului de maduva autologa sau heterologa.

PANCITOPENIA CONGENITALA

Anemia hipoplazica familială (sindromul Fanconi)

Aspectele cardinale ale acestei afectiuni rare sunt:

1) Transmiterea de tip autosomal recesiv.

2) Debutul pancitopeniei la varsta de 5-10 ani.

3) Asocierea frecventa a altor anomalii congenitale (pigmentare cutanata, talie redusa, microcefalie, anomalii scheletale, hipoplazie genitala şi malformatii renale).

4) Prezenţa unor variate anomalii cromozomiale (rupturi de cromatide) in celulele hematopoietice, limfocite şi fibroblasti cutanati.

5) Incidenţa crescuta a leucemiei acute si a tumorilor solide.

Există de obicei un oarecare raspuns la tratamentul cu androgeni şi corticosteroizi.

APLAZIA PURĂ A SERIEI ERITROCITARE

Foarte rar, aplazia afecteaza numai seria eritrocitara. Pacienţii respectivi prezinta anemie şi reticulocitopenie, alaturi de un numar normal de leucocite si trombocite. Aplazia pura a seriei eritrocitare poate fi o afectiune acuta, cu evolutie autolimitata (cand este consecutiva unei infecții cu parvovirus) sau poate imbraca o forma cronica. Cauzele de aplazie pura a seriei eritrocitare sunt enumerate in tabelul VII-2. In producerea aplaziei la unii pacienti sunt implicate mecanisme imunologice (spre exemplu la cei cu timoame sau boli autoimune). Evoluția aparent benigna a acestei aplazii poate fi marcata de aparitia unei leucemii acute mieloblastice, dupa cativa ani de la diagnostic.

Cauze de aplazie pură a seriei eritrocitare Tabelul VII-2

A) Congenitale
Sindromul Diamond Blackfan (eritroblastopenia congenitala)
B) Dobandite
Idiopatie
Infectii virale cu parvovirus N_{19}, pneumonie atipică, mononucleoză infecţioasă, oreion
Medicamente si substante chimice: azathioprina, Fenitoin, benzen
Timoame
Alte boli maligne: carcinoame, bools Hodgkin
Boli autoimune: LUES, poliartrita reumatoida
Insuficienta renala
Malnutritie protein-calorica

Capitolul 8
ANOMALII ALE LEUCOCITELOR

Leucocitele circulante sunt celulele efectoare ale seriei mieloide. Hematologii din secolul trecut le-au denumit granulocite, deoarece in citoplasma tuturor acestor celule, pe frotiurile

colorate Giemsa, au fost descrise granulații de diverse mărimi. Astazi, este cunoscut faptul ca aceste granulatii conțin enzime intraleucocitare specifice, indispensabile pentru procesele de aparare ale organismului.

In multe stari patologice, leucocitele circulante pot prezenta alterari morfologice, functionale sau numerice. Desi modificarile numerice absolute ale granulocitelor sunt comune pentru multe boli, pot constitui uneori elemente esentiale de diagnostic.

Numararea leucocitelor şi aprecierea morfologica a lor pe o hemograma obişnuita efectuata in conditii de mare urgenta şi fara pretentii tehnice poate fi de un real folos pentru orice clinician, indiferent de specialitatea sa.

Variațiile in plus sau in minus ale numarului de granulocite sunt cel mai frecvent asociate cu afectiuni benigne, dar pot fi prezente şi in sindroamele mielodisplazice (stari preleucemice), in bolile mieloproliferative cronice şi in alte boli maligne, inclusiv leucemiile.

Variaţiile normale şi durata de viața a leucocitelor in sangele periferic sunt prezentate in capitolul 1.

LEUCOPENIA

Termenii de leucopenie şi neutropenie sunt folositi pentru a descrie o reducere a numarului total de leucocite, respectiv neutrofile sub valorile considerate normale.

NEUTROPENIA

Neutropenia selectiva se poate observa intr-un numar mare de cazuri (tabelul VIII-1).

Cauze de neutropenie selectiva Tabel VIII-1

• fiziologica	neutropenia la populația de culoare neagra	
• medicamente	- antiinflamatorii	- Indomatacin
		- oxifenbutazon
		- fenilbutazon
		- saruri de aur
	- antibiotice şi chimioterapie	- Cloramfenicol
		- Co-trimoxazol
		- sulfonamide
	- anticonvulsivante	
	- antidiabetice	
	- antitiroidiene	
	- antimalarice	
	- tranchilizante	
	- antidepresive	
	- antihistaminice	
• infectii	- bacteriene	- infecţii piogene, bruceloza, febra tifoida
		- tuberculoză miliara
	- unele infectii virale, fungice sau parazitare	
• neutropenia imuna	- boala lupica	
	- sindromul Felty	
	- neutropenie autoimuna	
	- neutropenie alloimuna neonatala	
	- agranulocitoza indusă de amidopirina	
• alte conditii	- hipotiroidism	
	- neutropenie ciclica	
	- neutropenia cronica benigna familiala	

In mod special, neutropenia ar putea fi prezenta la pacienţii care au primit variate medicamente, multe dintre acestea fiind de uz comun.

Cand numarul de neutrofile scade sub 0.5 x 10^9/litru (500/mm^3), există riscul unor infecţii severe. Neutropenia poate fi unul dintre elementele tabloului hematologic de pancitopenie.

Agranulocitoza

Clasic, termenul de agranulocitoza a fost folosit pentru a caracteriza o boala acuta febrila cu leziuni necrotice ale cavitatii bucale şi orofaringelui, asociate cu o reducere extrem de marcata a numarului total de granulocite neutrofile in sangele periferic.

Boala a fost descrisa in 1902 de Brown, in 1907 de Türk şi in 1922 de Werner Schultz care a prezentat cel mai complet tablou clinic şi hematologic şi a denumit afecțiunea „agranulocitoza". Este o boală destul de rară, dar astazi este cunoscut faptul ca poate fi produsa printr-o neutropenie severa indusa de medicamente. Trombocitele şi hematiile nu sunt afectate.

Primul medicament incriminat a fost amidopirina. Deşi aceasta substanta a fost limitata foarte mult, substantele folosite in scop analgezic şi antipiretic au o compoziţie apropiata cu acest preparat. Incidenta agranulocitozei la pacientii care iau aceste preparate medicamentoase este de 1 %. La acest grup de medicamente, pe parcursul timpului s-au adaugat şi alte produse farmaceutice foarte diverse.

Acestea includ: antitiroidienele, in special thiouracilul, anumite tranchilizante cum ar fi clorpromazina (Clordelazinul), anumite medicamente antibacteriene cum ar fi sulfonamidele, Cloramfenicolul, medicamente antiinflamatorii (fenilbutazona) şi sărurile de aur. Multe din aceste medicamente ar putea cauza şi anemia aplastica.

Mecanismul de actiune al acestor medicamente nu este cunoscut, fie determina o reactie din partea organismului, fie interfera cu unul sau mai multe procese metabolice, la nivelul precursorilor neutrofilului (ex.: inhibarea sintezei ADN produsa de clorpromazina).

La un pacient care prezinta o infectie severa cu ulceratii bucale şi orofaringiene, cu disfagie importanta, adinamie, oboseala sau chiar stare toxica septica ar trebui evaluata posibilitatea unei agranulocitoze.

Tratamentul consta in intreruperea administrarii oricarui medicament, mai ales daca face parte din grupul susceptibil de a induce neutropenia şi utilizarea unor antibiotice conform antibiogramei. La un astfel de pacient se impune efectuarea unci punctii sternale, pentru a exclude forme foarte rare de leucemie acuta care debutează strict cu leucopenie severa, menţinand in limite nomale hemoglobina si numarul de trombocite.

Rata mortalitatii acestor pacienti cu agranulocitoza este mare, dar prognosticul este bun daca pe frotiurile de maduva osoasa se descriu precursori mieloizi normali, un procent normal de mieloblaşti şi un număr crescut de promielocite.

LIMFOCITOPENIA (LIMFOPENIA)

Limfocitopenia este definita prin scaderea numarului de limfocite sub 500/mm^3 la o valoare a leucocitelor de 4-80 x 10^9/litru (4000 - 8000 /mm^3). La copii, limfocitopenia este definita prin scaderea limfocitelor sub 3 000 elemente/mm^3.

Limfocitopenia este prezenta in sindromul de imunodeficienţa congenitala, in stresul acut, post-iradiere, tratamentul cu corticosteroizi şi medicamente citotoxice, traumatisme şi operații mari. Este, de asemenea, caracteristica in sindromul Cushing, uremie, boala lupica, sarcoidoza, boala Hodgkin.

LEUCOCITOZA

Reprezinta o creştere a numarului absolut al leucocitelor neutrofile, eozinofile, bazofile, monocite, limfocite peste valorile normale, admise a fi intre 4,0 şi 11,0 x 10^9/ litru (4.000 şi 11 000/mm^3).

LEUCOCITOZA CU NEUTROFILE

Cauzele care pot determina leucocitoza cu neutrofilie sunt prezentate in tabelul VIII-2.

Cauze de leucocitoza cu neutrofilie Tabelul VIII-2

• Fiziologice	- exercitiul fizic
	- stres emotional
	- sarcina, lactatia
	- nasterea fiziologica
• Infectii acute	- bacteriene, in special - bacterii piogene
	- virale, fungice sau parazitare
• Inflamații acute	- arsuri
	- necroză tisulara
	- infarct miocardic / pulmonar
	- boli de colagen (miozite, vasculite)
	- stari de hipersensibilizare
	- poliartrita reumatoida
	- distructii sau sindrom de zdrobire musculară („crush syndrome")
• Hemoragia acuta	
• Hemoliza acuta	- congenitala sau dobandita
• Tulburari metabolice	- cetoacidoza diabetica
	- uremie
	- guta
	- tireotoxicoza
• Boli mieloproliferative	- leucemia mieloida
	- mielofibroza cu metaplazie mieloida
	- policitemia vera
• Medicamente	- adrenalina, corticosteroizi, litiu
• Boli maligne	
• Nehematologice	- metastaze de carcinom, melanoame
• Cauze variate	- leucocitoza cu neutrofilie idiopatica, convulsii, tahicardie paroxistica, soc electric, postsplenectomie

Se observa ca o cauza importanta de leucocitoza cu neutrofilie este infectia cu germeni piogeni, cand numarul de leucocite prezinta obişnuit, valori intre 10-30 x 10^9/litru (10000 - 30000 /mm^3). De asemenea in aceste cazuri formula leucocitara este deviată la stanga, cu un procent mic de mielocite și metamielocite şi ocazional cu mieloblaşti.

Neutrofilele pot contine granulații toxice sau corpi Döhle - iar nivelul fosfatazei alcaline leucocitare este crescut. Granulatiile toxice, intens azurofile sunt raspandite difuz in citoplasma, iar copii Döhle sunt incluzii citoplasmatice de 1-2 u lungime, de culoare albastru cenuşie, situate la periferia celulei.

Semnificația devierii la stanga a formulei leucocitare, a prezentei de granulocite toxice şi corpi Döhle este o granulocitopoieza accelerata care apare nu numai in infecţii acute dar şi in arsuri severe, neoplasm sau chiar in sarcina normala. In timp ce adultul raspunde la o infectie bacteriana acuta prin leucocitoza cu neutrofilie, copiii dezvolta limfocitoza.

LEUCOCITOZA CU EOZINOFILIE

Eozinofilul a fost descris morfologic pe frotiul de sange periferic de catre Ehrlich. Eozinofilul din singele periferic sau din tesuturi se formeaza in maduva osoasa, dintr-un precursor comun seriei granulocitare - celula suşă mieloida multipotenta - care raspunde la un stimul specific, produs de limfocitele activate.

Eozinofilele mature ajunse in sangele periferic vor circula o perioada mai lunga de timp, peste 7-14 ore. Se considera ca valoarea eozinofiliei absolute din sangele periferic, nu reflecta valoarea rezervorului periferic de eozinofile funcţionale. Numărul de eozinofile in hemograma, ponte fi intre valori normale (2-4 %) dar in tesuturi, eozinofilia poate fi mult mai mare, deoarece funcţia efectoare se exercita predominant la acest nivel.

Granulatiile eozinofilelor sunt brun-roşcate, vizibile pe frotiul colorat Giemsa şi conţin 4 proteine cu potenţial citotoxic; (vezi tabelul VIII-3).

Proteinele majore conţinute de eozinofilele mature Tabelul VIII-3

Tipul de proteina	*Acţiunea*
1. Proteina bazica majora (bogata in arginina) 2. Peroxidaza eozinofilului 3. Proteina cristalina cationica (Charcot-Leyden) * Proteina de tip neurotoxic	• activitate de tip histaminaza cu rol in apararea impotriva parazitilor • prin eliberare de peroxid de hidrogen, distruge microorganisme • iniţiază eliberarea din mastocitul tisular a continutului enzimatic si participa la inflamatie • cristal hexagonal, lizofosfolipaza care reduce toxicitatea unor fosfolipide • actiune neurotoxica marcanta

Deci, acestea conţin: o proteina bazica majora, o peroxidaza eozinofilica, o proteina cristalina cationica, denumita Charcot-Leyden si o proteina de tip neurotoxic, foarte agresiva.

Eozinofilul mai poate produce o varietate de mediatori ai inflamatiei: leucotrienele C_4 si factorul activator al trombocitelor.

Astazi este cunoscut ca interleukina 5 (IL-5) influenţeaza diferenţierea eozinofilelor, adeziunea la peretele vasului şi durata lor de viata in vitro.

Sindromul hipereozinofilic

Uneori un numar foarte crescut de eozinofile, asociat cu anemie si trombocitopenie apare intr-o afecţiune de etiologie necunoscuta, denumita sindromul hipereozinofilic.

Aspectele clinice includ: febra, transpiraţii nocturne, pierderea ponderala, splenomegalie, leziuni cardiace, pulmonare şi ale sistemului nervos.

Afectarea cardiaca este un aspect caracteristic. Leziunile constau din zone cu infiltratie eozinofilica, procese de necroza și fibroză care afecteaza in special endocardul și regiunea subendocardica a miocardului, atribuite efectelor citotoxice ale granulelor conţinute de eozinofile.

Cauzele eozinofiliei Tabelul VIII-4

• Infestari parazitare	- ascarioza - filarioza - trichinoza - strongiloidoza - schistosomioza

	- toxocarioza
	- chistul hidatic
	- scabia
• Boli alergice	- astm bronsic
	- alergia la polen
	- sindromul Stevens-Johnson
	- vasculite sistemice (vasculita Churg-Strauss)
	- hipersensibilitate medicamentoasa (penicilina, sulfonamide, clorpromazina)
• Convalescenta dupa infectii acute	
• Boli de piele	- eczeme
	- psoriazis
	- pemfigus
	- dermatita herpetiforma
• Eozinofilie pulmonara	- sindromul Loffler (infiltrat pulmonar cu eozinofile)
• Sindromul hipereozinofilic	
• Poliarterita nodoasa	
• Leucenii și boli mieloproliferative cronice	- leucemie granulocitara cronica
	- leucemia cu eozinofile (foarte rara)
• Alte boli maligne	- boala Hodgkin
	- limfadenopatie angioimunoblastica
	- carcinoame (cu metastaze)

La cel putin o parte din bolnavi, sindromul hipereozinofilic pare sa fie o boala primara a maduvei osoase care poate evolua spre leucemie acuta (40-70%).

LIMFOCITOZA

Limfocitoza este caracterizata prin creşterea numarului absolut de limfocite peste 3.5 x 10^9/ litru, iar in formula leucocitara peste 35 % din totalul leucocitelor. Limfocitoza constituie raspunsul obisnuit al organismului la numeroase infectii virale.

In mononucleoza infectioasa, numarul crescut de limfocite este asociat cu prezența unor limfocite mari atipice (care sunt limfocite T activate).

O infecţie bacteriană acută, care in mod obişnuit şi caracteristic este asociată cu un număr mare de limfocite, uneori peste 50 x 10^9/litru este tusea convulsiva. Multe infecţii bacteriene care la adult cauzeaza leucocitoză, pot provoca limfocitoză la copii (1-7 ani). Cauzele limfocitozei sunt prezentate in tabelul VIII-5.

Cauzele limfocitozei Tabelul VIII-5

• Infecţii virale	- mononucleoza infectioasa
	- infecţia cu citomegalovirus
	- rubeola
	- rujeola
	- varicela
	- infecţii cu virusul influenza
	- hepatita acuta infectioasa
• infecții bacteriene	- tuse convulsivă
	- tuberculoza
	- sifilis
	- alte infecţii bacteriene acute la copii si tineri
• leucemie limfatica cronica	
• limfoame maligne	- nehodgkiniene cu tablou leucemie
• boala Waldenström	

• post-splenectomie (temporar)

MONONUCLEOZA INFECTIOASA (febra ganglionară)

Debutul bolii este benign, asemanator cu al oricarei boli infecțioase acute. Mononucleoza infecțioasă este produsă de virusul Epstein-Barr, care infectează celulele epiteliale ale nazofaringelui şi limfocitele B.

Virusul este prezent in saliva şi poate fi transmis prin picaturi fine sau prin sarut („boala sarutului"). Perioada de incubatie este de 5-7 saptamani. O proporţie mare de pacienti devin infectați in timpul copilariei şi aproximativ 90 % din adulti au anticorpi induşi de prezenta virusului Epstein-Barr.

Mulți dintre cei infectati au o evoluție subclinică, sau prezinta atacuri benigne de boala; deosebit de frecvente la copii. Simptomele cele mai comune sunt astenia fizica marcată, cefaleea, disfagia, anorexia, greata şi febra. Faringite şi amigdalita foliculara sunt prezente in procent ridicat (70-90 % din cazuri).

In majoritatea cazurilor, la examenul clinic, se descopera şi cel de al treilea semn cardinal al bolii - adenopatia cervicala.

La aproximativ jumatate din bolnavi este prezenta o splenomegalie moderată 20 % - cu splina percutabila si palpabila la rebordul costal in inspir profund.

La o parte din pacienți se descrie prezenta unor edeme periorbitale şi un numär mic de pacienti au pe tegumente" rash" - o erupţie maculopapuloasă care durenza 3-4 zile. De asemenea icterul tegumentar şi scleral poate fi prezent la un numar mic de pacienti.

In mononucleoza infecțioasa, daca splina creşte brusc, distensia capsulei poate fi urmata de ruptura splenică. Pot fi prezente purpura trombocitopenica, coagulare diseminata intravasculara, anemie hemolitica autoimuna (cu anticorpi la rece anti-i, mai rar anti-I).

Sunt cunoscute şi alte complicaţii posibile: anemie aplastica, insuficieta hepatica, pericardita, miocardita şi afectarea sistemului nervos.

In sangele periferic doua date sunt caracteristice: o creştere a limfocitelor in numar absolut peste limita normalului pana la valori de 10-20 x 10^9/litru şi apariţia de limfocite cu aspect morfologic anormal, deseori descrise ca celule mononucleare atipice (in transcriptie tradițională veche „celule mononucleare în drapel").

Morfologia acestor celule este foarte variata şi similara cu cea a limfocitelor din sangele periferic, care au fost transformate dupa o stimulare in vitro cu mitogeni (vezi fig. 8.1).

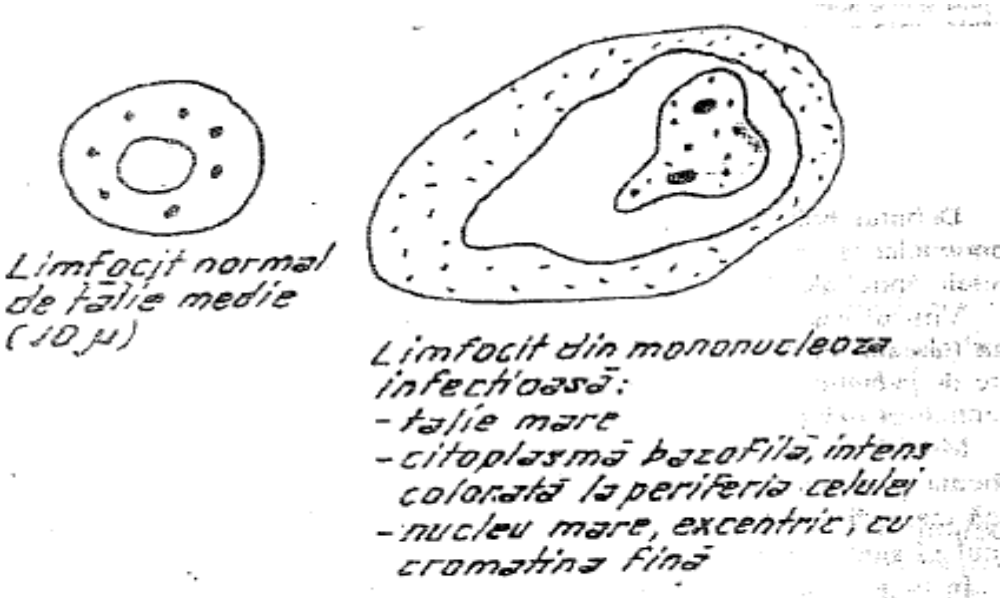


Fig. 8.1 — Prezentare comparativă a limfocitului din mononucleoza infecţioasă faţă de limfocitul normal.

Celulele anormale sunt mari, cu o citoplasma abundenta, bazofila. Nucleul este destul de mare, lobulat sau cu mici prelungiri, cu cromatina fina şi cu nucleoli proeminenţi. Nucleul este impins spre periferie şi uneori marginile lui ating marginile celulei dand aspectul clasic de “celulă in drapel".

Celulele mononucleare atipice descrise sunt limfocite T care au reactionat impotriva limfocitelor B infectate, ce prezinta pe suprafata lor antigene virale (numai celulele B au receptori pentru virus, și anume receptorii CD21).

Multe din limfocitele B infectate sunt morfologic normale şi numarul absolut de limfocite B este crescut. La mulţi pacienţi apar anticorpi heterofili care se formează ca raspuns la antigenele unei specii şi reacţioneaza incrucişat cu antigenele aflate pe suprafata unor celule din alta specie. Cei mai caracteristici anticorpi heterofili, aglutineaza hematiile de oaie şi de cal şi pot fi absorbiţi de eritrocitele de bou, dar nu şi de celulele renale de cobai.

Testul Paul Bunnell Hăngănuţiu şi alte teste mult mai simple pentru mononucleoza infecţioasa se bazeaza pe detectarea acestui tip special de anticorp care se dezvolta, in proporţie de 80-90 % in cursul celei de-a doua sau a treia saptamani de boala.

Titrul de anticorpi scade progresiv și nu mai pot fi detectati dupa 2-3 luni de la debutul bolii. Anticorpii impotriva proteinelor produse de virus apar in acelasi interval de timp, persistă mulți ani și ofera o imunitate pentru o perioada lunga de timp.

MASTOCITELE ŞI BAZOFILELE

Işi au originea intr-o celula suşă comuna: ambele exprima pe suprafaja lor receptorul Fc R1 care are mare afinitate pentru portiunea Fc a IgE. Bazofilul se recunoaşte pe frotiu datorita prezenţei de granulatii caracteristice albastre-negre care conţin in principal histamina, heparina si numeroase enzime.

Mastocitul este prezent ubicuitar in tesuturi, fiind insa absent in singele periferic. Morfologic se distinge uşor de bazofil, fiind o celula perfect-rotunda, cu nucleul de asemenea rotund, cu numeroase granule albastre care acoperă citoplasma şi nucleul (aspect de „pată de cerneala"). Cand IgE se fixeaza pe bazofil şi mastocit acestea sufera un complex de transformari morfologice și biochimice care vor conduce la eliberarea unor mediatori similari dar nu identici.

In conformitate cu ultimele cercetari, mastocitele şi bazofilele difera intre ele printr-o serie de aspecte legate de morfologia lor, de distributia și exprimarea structurilor de suprafața (tabelul VIII-6).

Tabelul VIII-6

Ontogenia, distributia, mediatorii si structurile de suprafata membranara ale mastocitelor si bazofilelor

Caracteristici	*Bazofile*	*Mastocite*
Ontogenie si distributie		
Originea celulei precursoare	Maduva osoasa	Maduva osoasa
Sediul de maturare	Maduva osoasa	Tesut conjunctiv (un numar mic in maduva osoasa)
Celule mature in circulație	Da	Nu
Cele mature recrutate	Da (in momentul raspunsului imun sau inflamator)	Nu
Celule mature cu sediul in tesutul conjunctiv	Nu	Da
Capacitatea de proliferare a celulelor mature	Neconfirmata	Da (in anumite conditii)
Durata de viata	Zile (ca celelalte granulocite)	Saptamani/luni (studii pe rozatoare)
Mediatori		
Mediatori principali din granulele citoplasmatice	Histamina, condroitin sulfati, proteaze neutre cu rol in formarea bradikininei - glucuronidaza, elastaza, proteina bazica majora, proteina cristalului Charcot Leyden, enzima catepsin G-like	Histamina, heparina sau condroilin sulfati, proteaze neutre, hidrolaze acide, catepsina G, carboxipeptidaze
Mediatori lipidici produsi in conditii de activare	Leucotriena C4 (L7C4)	PGD2. LTC4. PAF
Citokine eliberate	7 (la şoarece par se fie sursa de IL4)	Factorul de necroza tumorala (TNF)
Structuri de suprafata		
Receptori pentru Ig	Receptori pentru IgE (Fc RI) si Fc a IgG (Fc RII)	Fc R1
Receptori pentru citokine si factori de crestere	Receptori pentru IL2, IL3, IL4. IL5, IL8 si SCF (factorul celulei siem; unele bazofile exprima un numar mic de receptori c-kit)	Receptori de tip c-kit*
Structuri cu rol in adeziunea celulara	LFA1 (antigenul asociat functiei limfocitului LFA -1 ICAM 1)	ICAM 1 (molecula de adeziune intercelulara)

*Receptorii de tip c-kit (pentru tirozin-kinaza codificata de protooncogena c-kit) leaga SCF si induc proliferarea, maturarea, activarea şi sinteza heparinei de catre mastocite.

Funcția lor nu este complet elucidata - dar aceste celule generează mediatori care influenţeaza procesele inflamatorii şi sunt implicate in reactiile acute de hipersensibilitate (vezi tabelul VIII-7).

Mediatori eliberati de mastocite si bazofile Tabelul VIII-7

Mediator	*Actiune*
• histamina	• contractia fibrei musculare netede • cresterea permeabilitatii vasculare
• substanţa cu actiune lenta a anafilaxiei SRS-A (leukotriene C4, D4, E4)	• contractia fibrei musculare netede
• factorul chemotactic al eozinofilelor in anafilaxie	• atractia chemotactica eozinofilelor • activează trombocitele pentru a secreta serotonina si alti mediatori
• factorul activator al placbetelor (PAF)	• contractia fibrei musculare netede • creşterea permeabilitatii vaselor • atractia chemotactica a neutrofilelor
• factorul chemotactic al neutrofilelor	• atractia chemotactica a neutrofilelor
• activitatea leucotactică (leucotriene B4)	• anticoagulanta
• heparina	• cliveaza kininogenul pentru a forma bradikinina
• kalicreina bazofilelor cu actiune in anafilaxie	

In formula leucocitara, procentul de bazofile este de 0,1 %. Principalele cauze ale bazofiliei sunt:

- stari alergice induse de medicamente, alergeni alimentari, inhalati
- boli mieloproliferative cronice, leucemie granulocitara cronica, mieloscleroza cu metaplazie mieloida, policitemia vera;
- condiţii foarte variate: mixedem, colita ulceroasa
- in boli infectioase - rubeola, rujeola, sinuzita cronica
- Stres, sarcina, postsplenectomie
- mastocitoza sistemica, leucemie cu bazofile (boli foarte rare)

MONOCITELE ŞI MACROFAGELE

Monocitele se formeaza dintr-o celula precursoare mieloid comuna cu seria granulocitara neutrofila. Işi au originea in maduva osoasa, circula in sangele periferic şi se diferențiaza functional in tesuturi, unde devin macrofage.

Nu exista un rezervor important de monocite in maduva osoasa, aspect deosebit de seria granulocitara. Monocitele au o durata de viata in sangele periferic asemanatoare cu a neutrofilelor, aproximativ 6 ore şi functia lor este tot de fagocitoza şi distrugere a microorganismelor.

Iimportant pentru aspectul funcţional al acestei serii, este capacitatea lor de a se replia in tesuturi, unde pot avea o durata de viata pana la 80 zile - pentru macrofogele alveolare - şi chiar mai mult pentru celulele Kupffer din ficat. Monocitele pot prezenta diferente in aspectul lor morfologic şi continutul enzimatic, in funcție de tipul tesuturilor.

Celulele monocite-macrofage sunt localizate in: ganglionii limfatici, splina, maduva osoasa, tesut conjunctiv perivascular, la nivelul tuturor seroaselor (pleura, pericard, peritoneu) in sinovialele articulare, piele, plaman, ficat, os (osteoclast), sistem nervos central (microglia).

La această populatie comuna de monocite şi macrofage adaugam doua tipuri de macrofage derivate din celula mieloida din maduva osoasa, specializate ca celule prezentatoare de antigen; celule dendritice (ganglioni, splina, timus) şi celule Langerhans (piele şi timus).

Funcțiile monocitelor şi macrofagelor

1. fagociteaza şi distrug bacteriile;
2. capteaza din sange detritusurile celulare şi celulele sanguine imbatranite
3. interactioneaza cu limfocitele in procesul imun - prezinta antigenul prelucrat limfocitului prin intermediul sistemului de histocompatibilitate clasa II; de asemenea, secreta interleukina 1 care activează limfocitul T;
4. au efecte citotoxice la nivelul celulelor tumorale;
5. exprima la suprafata membranei receptorul Fc pentru portiunea Fc a imunoglobulinei şi poate activa componente din sistemul complementului;
6. secreta o serie de substante active: factorul (GM-CSF) stimulator al coloniilor de neutrofile și monocite; factorul inhibitor al migrării macrofagului (MIF); interleukina 1;
7. secreta factorul de necroza tumorala (TNF).

Anomalii ale monocitelor şi macrofagelor.

In cazul seriei monocit-macrofag sunt recunoscute anomalii cantitative şi calitative (exemplu: modificari privind capacitatea de depozitare a acestei serii celulare). Aceste modificări sunt secundare unor alterari congenitale ale unor enzime lizozomale. Monocitoza si hiperplazia reactiva a macrofagelor sunt cele mai frecvente anomalii.

Proliferarile seriei monocit şi macrofag pot fi benigne şi maligne (vezi tabelul VIII-8). Proliferarile maligne includ leucemia acuta mielo-monocitara, leucemia acuta monocitara, boala Letterer-Siwe şi reticuloza medulara histocitara. Aceasta din urma este o boala a adultului, pe cand boala Letterer-Siwe afecteaza in special copiii.

Tabloul clinic in ambele boli este asemanator cu cel al limfoamelor maligne. Aspectele comune sunt: febra, limfadenopatia, scaderea ponderala, hepatosplenomegalia. Leziunile cutanate și osoase (osteoliza intinsa) sunt obişnuite pentru boala Letterer-Siwe si mai puțin frecvente in reticuloza histiocitara medulara.

Anomalii ale monocitelor şi macrofagelor Tabel VIII-8

I. Hiperplazia reactiva a monocitelor si macrofagelor	
a) Boli infectioase:	tuberculoza, sifilis, bruceloza, malaria, lepra, listerioze, schistosomiaza, leishmanioza, histoplasmoza, criptococoza
b) Boli neoplazice:	leucemia mielomonocitara, boli limfoproliferative şi mieloproliferative, sindroame mielodisplazice si alte boli maligne
c) Boli hematologice:	anemie hemolitică, status postsplenectomie, convalescenta dupa neutropenie
d) Boli reumatice:	poliartrita reumatica, boala lupica
e) Boli inflamatorii gastro-iniestinale ale tractului şi ciroza hepatica	
f) Alte afectiuni:	sarcoidoza, reactii medicamentoase, hiperplazia reactiva cu macrofage la substante chimice (beriliu, siliciu şi substanţe organice)
II. Boli proliferative	
a) Neoplazii:	leucemia monocitară şi leucemia mielo-monocitara, boala Lettescr-Siwe,

	reticuloza histiocitara medulara
b) Reactive:	granulomul eozinofilic, boala Hand-Schuller-Christian, boala hemofagocitara
	asociata cu virus
III. Tezaurismoze:	boala Gaucher, boala Niemann-Pick, boala Fabry, boala Tay Sachs, boala cu
	histiocite albastre
IV. Sindroame asociate cu disfunctia monocitului şi macrofagului	
a) Congenitale:	boala cronica granulomatoasa, deficienta de mieloperoxidaza, sindromul
	Chediak-Higashi
b) Dobandite:	macrofagele la fumatori, macrofagele din lepra lepromatoasa, tuberculoza
	miliara, infectii fungice diseminate

Diagnosticul in ambele boli se bazeaza pe evidențierea macrofagelor maligne in ţesuturi. Ambele boli sunt rapid progresive, iar prognosticul este fatal.

In categoria bolilor maligne ale seriei monocit-macrofag se descriu si alte boli ca Hand-Schuller-Christian şi granulomul eozinofilic. Boala Hand-Schuller-Christian este ca caracterizata prin acumulare focala de macrofage care contin canutați mari de lipide, in jurul carora exista un numar mare de leucocite (limfocite), plasmocite, neutrofile, eozinofile.

Aceasta boala este mai frecventa la copii dar poate fi intalnita şi la adulţi. Evolutia bolii este extrem de variabila. Leziunile pot fi la nivelul tuturor organelor, dar cele mai frecvente localizari sunt cele cutanate, osoase, pulmonare.

Afectarea osoasa se produce mai ales la nivelul zonei sellare; aceasta explica aspectul clinic compus din triada: exoftalmie, diabet insipid, leziuni litice osoase la nivelul calotei. Granulomul eozinofilic este o boala caracterizata prin acumulare localizata de macrofage şi eozinofile, leziunile fiind in special osoase. Tratamentul acestor boli maligne ale seriei monocit-macrofag consta din iradierea leziunilor osoase, corticoterapie, Vinblastin şi imunosupresoare.

Aproximativ 15% din pacienti mor datorită complicaţiilor infecţioase sau insuficientei pulmonare.

Mar rar intalnita in seria monocit-macrofag este afectiunea denumita „sindron hemofagocitic asociat cu virus". Cel mai frecvent implicat este virusul herpetic.

Clinic, bolnavii prezinta hepato-splenomegalie, limfadenopatie, rash cutanat şi pancitopenie. Macrofagele care prolifereaza in aceasta boala, contin in citoplasma eritrocite fagocitate. Evoluția este benigna autolimitata, deosebita de reticuloza histocitara medulara. In aceasta din urma, macrofagele prezinta din punct de vedere morfologic multiple atipii şi sunt putin diferentiate deşi clinic boala poate prezenta acelaşi aspect: hepatosplenomegalie, rash cutanat, adenopatie.

REACŢIILE LEUCEMOIDE

In unele situaţii, examinarea obişnuita a frotiului de sange periferic descrie anomalii morfologice, care corelate cu parametrii cantitativi ai hemogramei (valoarea hemoglobinei, numar de leucocite, numar de trombocite) ar putea sugera diagnosticarea de leucemie.

In aceste condiţii, numarul de leucocite este pesta 50 x 10^9/litru şi uneori tabloul sanguin periferic seamana cu cel de leucemie granulocitara cronica sau cu cel de leucemie limfatica cronica.

In formula leucocitara, pe langa numarul crescut de leucocite, exista forme tinere: mieloblast (1 %), promielocit (1 %), cu un procent mediu de mielocite (5-10 %) şi metarniclocilc (5-10 %). In leucocitele neutrofile din reactia leucemoida vor fi prezente granulatii toxice şi corpi Döhle.

In formula lipsesc bazofilele caracteristice bolilor mieloproliferative - exemplu leucemia granulocitara cronica - cu care seamana ca mod de desfasurare a formulei. Se indica determinarea fosfatazei alcaline leucocitare al carei nivel este zero (0) in leucemia granulocitara cronica şi este mult crescut peste normal in reacțiile leucemoide.

Reacția leucemoida cu numar crescut de leucocite şi cu un procent absolut de limfocite, trebuie diferenţiata de leucemia limfatica cronica. Diagnosticul se bazeaza pe anamneza, varsta, aspect infectios clinic sever şi absenta sindromului hemoragipar. Reacţiile leucemoide cu limfocitoza pot aparea ca un raspuns exagerat al organismului la o infectie - de obicei tusea convulsiva sau mononucleoza infectioasa (vezi tabelul VIII-9).

Cauzele reactiei leucemoide Tabelul VIII-9

• infecţii severe bacteriene: cu reactie leucemoida mieloida/mieloblastica	pneumonii, meningita pneumocitara, difterie, tuberculoza (perioada activa)
• infectii virale (reactie leucemoida limfoida) si bacteriene	mononucleoza infectioasa, limfocitoza acuta virala a copilului, varicela, TBC.
• intoxicatii cu mercur, eclampsie, arsuri	
• boli maligne, cu metastaze osoase (carcinoame gastrice, de prostata, bronhopulmonar) mielom multiplu (in cazuri rare, boala Hodgkin)	
• hemoragii acute severe, hemoliza brutala intravasculara sau extravasculara	
• Sindromul Down (in perioada neo-natala)	

REACŢIA LEUCO-ERITROBLASTICĂ

Aspectul caracteristic este prezenta pe frotiul de sange periferic a unui numar crescut de normoblaşti şi a unor celule imature din seria granulocitară (mielocite mature). Obligatoriu, numărul de leucocite depăşeşte 15 x 10^9/litru.

Tabloul cu aspect leucoeritroblastic este prezent cand maduva osoasa este infiltrata cu celule maligne (carcinom, limfom, mielom multiplu, leucemii), inlocuita cu ţesut fibros (mielofibroza primara și secundara) sau infiltrata cu celule de depozitare (boala Gaucher).

Tabloul leucoeritroblastic poate sa se observe in hemoragii severe sau in hemoliza brutala. De asemenea, este prezent post-splenectomie precum şi in talasemia intermediara sau majora.

Aspiratul de maduva osoasa este obligatoriu pentru a elucida diagnosticul diferential. Daca suspectam o anemie hemolitica la un pacient splenectomizat, cu o infecție bacteriana supraadaugata, se completeaza cercetarea atenta a frotiului de sange periferic cu electroforeza hemoglobinei. Pentru talasemia majora tip Cooley, tabloul leuco-eritroblastic este caracteristic in 70 % din cazuri şi in 100 % din cazuri daca pacientii sunt splenectomizati. Aceasta a determinat pe clinicieni sa denumeasca anemia Cooley - „anemia hemolitica mediteranceana cu leucoeritro-blastoza".

SINDROAMELE MIELODISPLAZICE

Termenul este folosit pentru a descrie un grup de boli in care exista evidenta unei anomalii a maturarii celulare (displazie) la una sau mai multe linii mieloide. Producția de elemente sanguine din liniile celulare displazice este ineficienta, se distruge intramedular şi in consecinta apare anemia, trombocitopenia şi neutropenia.

Populatia de celule displazice reprezinta o clona anormala derivata dintr-o celula mieloid/multipotenta. Clona anormala este stabila pentru o periada de timp variabila (de multe ori o perioada de cativa ani). Aceasta poate genera clone noi celulare asociate cu creşterea

hematopoiezei ineficiente, cu creşterea aspectului disfunctional al celulelor mature sau cu proprietati evidente de tip malign.

Aceste aspecte duc la apariţia tabloului de leucemie acuta mieloida. La o parte din pacienti sindromul mielodisplazic este consecinta unui tratament cu citostatice aplicat anterior sau iradierii, dar la cei mai multi bolnavi nu exista factori etiologici care sa poata fi puşi in evidenta cu usurinta.

Majoritatea pacienţilor cu sindrom mielodisplazic au peste 60 ani; la aceasta varsta sindromul mielodisplazic poate fi de 6 ori mai frecvent decat leucemia acuta mieloblastica.

Unii bolnavi sunt diagnosticati incidental, pacientul prezentându-se pentru un examen hematologic de rutină. Un grup de bolnavi cu sindrom mielodisplazic se poate prezenta pentru acuze legate de anemie, trombocitopenie, neutropenie şi anomalii ale funcției neutrofilului si trombocitelor (stare de confuzie, dispnee, sângerări spontane sau alte manifestări hemoragice, infecţii repetate care nu răspund la tratamentul cu antibiotice).

Pe frotiul de sânge periiferic multe cazuri se descrie o varietate de anomalii.Uneori o singură anomalie ar putea fi suficientă pentru diagnostic; alte modificări pe frotiu apar mai târziu.

Anomaliile pe care le putem descrie pe frotiu sunt: macrocitoza (nu se datorează deficientei de vitamina B12 sau folaţi), neutrofile cu un număr redus de granule sau cu anomali Pelger Huet (nucleul neutrofilului bilobat), prezenţa, de trombocite mari. In măduva osoasă se pot descrie: eritropoieza megaloblastică (nu este datorată deficienţei de vitamina B13 sau folați), sideroblaşti inelari, aspect neregulat al bucleului din eritroblast sau prezenţa de 2 nuclei în acelaşi eritroblast.

Există de asemenea, anomalii cromozomiale cum ar fi monozomia 5 sau 7. In diagnosticul diferenţial pe care-l facem, cu leucemia acută, trebuie avut in vedere

-numărul de celule blastice care nu depăşeşte valoarea de 30 % din totalul de celule nucleate din măduvă. Pe baza datelor hematologice, grupul de cooperare FAB a clasificat sindroamele mielodisplazice în 5 categorii: detalii ale acestei clasificări sunt prezentate in tabelul VIII-10.

Clasificarea sindroamelor mielodisplazice (FAB)

Sindrom	*Sânge periferic*	*Măduvă osoasă*
Anemie refractară	blaşti 1 %	blaşti 5 %; sideroblaşti 15 %
Anemie refractară cu sideroblaşti inelari (anemie sideroblastică primară)	macrocite, megalocite (volum mediu al hematiei crescut) - modificări ale seriei roşii	blaşti 5 %; sideroblaşti inelari 15 % (medic 50 %)
Anemie refractară cu exces de blaşti (AREB)	blaşti 5 %	blaşti 5-20 %
Leucemie cronică mielomonocitară	monocite în număr crescut 1,0 × 10^9/l granulocite adesea crescute	blaşti 20 % promonocitele ar putea fi crescute
Anemie refractară cu exces de blaşti în transformare	blaşti 5 % sau corpi Auer prezenţi	blaşti 20-30 % sau corpi Auer prezenţi

Sindromul de anemie refractară cu sideroblaşti inelari are un prognostic mult mai bun decat alte entități clinice. Numai o parte din aceste anemii refractare dezvoltă leucemii acute, Tratamentul acestor pacienți este inceput numai în momentul de evolutie a bolii cand o parie din simptome devin evidente şi creează o stare alterati. Tratamentul citopeniei este dificil şi uneori este aplicat un tratament suportiv cu transfuzie.de trombocite, transfuzie de masă eritrocitară, un tratament adecvat cu antibiotice.

Asupra numărului de leucocite se poate acționa cu agenți de tip citotoxic cum ar fi doze mici de citosinarabinozin (Cytosar) sau acid cis-retinoic. Dacă apare leucemia acută mieloidă, cei mai mulţi pacienţi au o evoluţie scurtă de câteva luni; acest tip de leucemie răspunde foarte putin la tratament.

LEUCEMIILE

DEFINITIE

Leucemiile sunt boli neoplazice care apar prin transformarea maligna a celulelor precursoare hematopoietice. Celulele maligne circulă prin sânge şi infiltrează orice ţesut din organism. Leucemiile sunt boli clonale deoarece apar prin proliferarea unei singure celule, celulei stem limfoide sau a celulei stem mieloide

Pentru aproape 20 % din cazurile de leucemie acută şi in leucemia granulocitară cronică, celula care suferă transformarea este, probabil, celula suşă (acea celulă capabili să genereze toate liniile celulare sanguine inclusiv seria limfatică).

In alte cazuri, se presupune că leucemiile rezultă din celulele precursoare mult mai mature cu posibilităţi de diferenţiere restrânse la una-trei linii celulare.

Clona malignă va genera o populatie de celule hematopoietice, care sunt incapabile de a se matura (fenomenul de blocare" a maturaţiei). Apariţia celulelor leucemice presupune mai multe etape care includ defecte de creştere şi diferenţiere.

Una dintre aceste etape se referă la dobândirea capacităţii de producere a unor factori de creştere proprii celulelor leucemice - fenomen care stă la baza proliferarii autonome a acestor celule.

Astfel, s-a constatat recent că celulele leucemice ar putea produce unul sau mai mulji factori hematopoietici de creştere: factori stimulatori ai coloniilor granulocitelor şi macrofagelor (GM-CSF), interleukina 1 (IL-1) şi interleukina 6 (IL-6), factorul alfa de necroză tumorală (TNF). Aceşti factori conferă celulelor leucemice un avantaj de creştere, astfel că, in vitro - aceste celule formează colonii, in absența serului sau oricărui factor de creştere, adăugat în cultură.

CLASIFICARE

Există 4 forme comune ale leucemiei: acută limfoblastică, acuta mieloida,

granulocitară cronică şi limfatică cronică. Termenii ‚acută" și „cronică“ se referă la evoluţia naturală a bolii. Pacienţii cu forma acută au o evoluţie de câteva săptămâni sau luni, spre deosebire de cei cu formă cronica care au o durată de supravietuire mai lungă.

Clasificarea clinică a leucemiilor corespunde cu gradul de maturitate tipului celular predominant, prezent în măduva osoasă şi în sângele periferic. Celulele cu gradul de maturație cel mai redus, asemănătoare cu celulele blastice, constituie tipul celular predominant găsit în sângele periferic şi măduva osoasă din leucemia acuta

In leucemiile cronice predomină celulele cu un aspect morfologic mult mai matur. Tipurile celulare predominante care sunt găsite în cele 4 forme comune de leucemie sunt prezentate in tabelul VIII-11.

Tipuri celulare predominante in 4 forme majore de leucemii

Tipul de leucemie	*Tipul celular predominant în măduvă şi sângele periferic*
Limfoblastică acută = LAL	Limfoblaşti
Mieloblastică acută = LAM	Mieloblaşti, uneori promielocite, monoblaşti sau promonocite; Ocazional eritroblaşti şi rareori megakarioblaşti
Limfatică cronică = LLC	Limfocite
Granulocitară cronică (mieloidă) = LGC	Neutrofile, miclocite, metamielocite

În ultimul deceniu, anticorpii monoclonali față de variate antigene celulare și tehnicile citochimice au permis o recunoaştere mai bună a celulelor leucemice si realizarea unui sistem international de clasificare a leucemiilor acute Modelul propus de grupul de cooperare francez-american-engleż este prezentat in tabelele ViIII-12 și VIII-13.

Clasificarea FAB: a leucemiilor acute limfoblastice

Categoria FAB	*Aspecte ale limfoblaştilor leucemici* *- în măduva osoasă* *- în sângele periferic*
L_1	Celulă mică, citoplasma redusă şi aspect uniform
L_2	Celulă mare, pleiomorfică cu citoplasma abundentă
L_3	Celulă mare cu citoplasma bazofilă moderat abundentă şi numeroase vacuole (celule asemănătoare cu cele descrise în limfomul Burkitt)

Clasificarea FAB: a leucemiilor acute mieloide (M1-M3)

Categoria FAB	*Aspecte din măduva osoasă*
M_1 - leucemie mieloblastică fără maturaţie	Predomină mieloblaşti; cei mai mulţi sunt imaturi sau foarte puţin maturi
M_2 - leucemie mieloblastică cu maturaţie	Predomină mieloblaştii; unele celule se pot matura până la stadiul de promielocit
M_3 - leucemie promielocitară	Predomină promielocitele cu granulaţii în citoplasmă
M_4 - leucemie miclo-monocitară	Evidenţa unei maturări a seriei granulocitelor şi monocitelor; promonocite şi monocite 20 % în sângele periferic sau în măduva osoasă
M_5 - leucemie monocitară	Predomină monoblaştii şi promonocitele
M_6 - eritroleucemie	Prezenţa unui procent crescut de eritroblaşti cu multe anomalii morfologice alături de 1-10 % mieloblaşti
B_7 - leucemie megakarioblastică	Predomină megakarioblaştii şi micromegakariocitele şi se poate asocia cu mielofibroza acută

* Astăzi se include şi tipul M_6: leucemia acută cu mieloblaşti.

ETIOLOGIE

Etiologia leucemiilor este încă sub investigatii atente. Studiile suşe de şoareci, înrudite au arătat că există o susceptibilitate a acestor animale de a dezvolta leucemie, bazată pe interactiunea complexă, dintre factori genetici şi alți factori, cum ar fi vârsta, statusul hormonal şi imunologic, gradul de expunere la iradiere, substanţe chimice leucemogene sau virusuri.

De exemplu, anumite suşe de şoareci (C3H) foarte rar dezvoltă spontano formă de leucemie, chiar, la vârsta inaintată (old age") dar o pot prezenta, frecvent la un interval scurt după iradiere.

Din contră, alte suşe (exemplul Ak) pot dezvolta spontan leucemie la vârste înaintate, frecvent, la un interval! scurt după iradiere. Dezvoltarea leucemiei la oameni, de asemenea, pare să fie dependentă de interrelaţia dintre mai mulţi factori.

În continuare vom discuta factorii care se presupune a fi implicați în procesul de leucemogeneză la oameni.

Iradierea

Evidenţa că iradierea poate fi un factor leucemogen la oameni, se bazează pe date care au arătat o incidenţă crescută a leucemiilor în următoarele situații:

1. La supravieţuitorii bombardamentului atomic de la Hiroshima şi Nagasaki, care au primit o singură dată în viață o doză mare de iradiere pe toată suprafata corporală.

2. La pacienţii cu spondilită ankilopoietică, care au primit doze repetate de iradiere pe regiunea coloanei vertebrale, în special dorso-lombare sau sacrate.

Cateva aspecte ale leucemiei care apare dupa iradiere parțială sau totală merită a fi menţionate; acestea sunt:

1. există o relație directă intre doza de iradiere şi riscul leucemiei;

2. numai o anumită proporție din indivizii sănătoşi dezvoltă leucemie (unul din 60 pacienți iradiați puternic prin bombardament atomic, dezvoltă o leucemie in decurs de 12 ani).

3. există o perioadă destul de lungă de la expunere până la debutul leucemiei (varful incidentei leucemiilor acute sau cronice se situează la 5 ani, după expunere):

4. iradierea induce leucemie acută şi cronică mieloidă precum şi leucemie acută limfoblastică, dar nu induce leucemie limfatică cronică.

Nu este dovedită validitatea acelor observaţii că ar exista o incidenţă mai mare a leucemiei la copiii născuti din mame expuse la iradiere în cursul periodei de sarcină.

Substantele chimice

Un factor leucemogen care ar putea fi incriminat este expunerea populaţiei la anumite substanțe chimice cum ar fi poluanţii din mediul inconjurător şi medicamentele.Există o evidență convingătoare că benzenul este şi mielotoxic şi leucemogen.

Mielosupresia indusă de medicamentele citotoxice (Clorambucil, Endoxan) poate uneori să preceadă apariţia leucemiei. Există, de asemenea, o dovadă din studiile epidemiologice, care ar implica şi alte substanţe în etiologia leucemiei: petrolul, produse petroliere, pesticide, coloranţi.

Tratamentul cu diferiți agenți antitumorali cum ar fi: procarbazina, Melphalanul, thio-TEPA, Chlorambucil (Leukeran) şi ciclofosfamida sunt asociate cu un risc crescut al leucemiei. În cazul Melphalan, Clorambucilul, ciclofosfamidei, sunt discutate cazurile de leucemii apărute la pacienţi care suferă de boli maligne, dar care au fost trataţi cu aceste medicamente alchilante, pentru boli de colagen, sau vasculite sistemice - de exemplu boala Wegner tratată cu ciclofosfamida are un răspuns bun în 90 % din cazuri, dar un număr de pacienţi pot dezvolta leucemie acută ca urmare a acestui tratament.

Virusurile

Virusurile sunt implicate în leucemogeneză la şoareci, pui de găină, sobolani şi pisici. Totuşi numai un singur virus a fost implicat în leucemo geneza umană: HTLV 1 virus izolat de la pacienţii cu limfomul T leucemic.

Acest tip rar de leucemie este endemic în anumite regiuni din Japonia, dar există şi localităţi cu grupuri de populatie afectată, după cum există şi cazuri izolate, descrise la populația neagră din Vestul Indiei şi din USA.

HTLV-1 nu se integrează în genomul celulei gazdă pentru a forma o oncogenă. Virusul ar putea produce o proteină reglatoare care ar afecta activitatea genelor celulare.

Factorii genetici

Nu există dovezi suficient de convingătoare asupra rolului factorilor genetici în leucemogeneza umană, spre deosebire de modelele experimentale pe şoarece. De exemplu, s-a descoperit că,

urmărind dezvoltarea leucemiei acute la unul din gemenii univitelini, există o şansă de 25 % ca cel de al doilea geamăn să dezvolte tabloul de leucemie acută în decurs de săptămâni sau luni.

De asemenea, există un număr relativ mic de cazuri de leucemie observate la una sau mai multe generaţii ale aceleiaşi familii. La prima vedete, aceste date ar putea indica intervenţia unor factori genetici - totuşi, există controverse, dacă frecvența cu care două sau mai multe cazuri de leucemie, care se observa în atetaşi familie este mai mare, decât frecventa care se poate observa prin hazard.

Deoarece familiile trăiesc în aceleaşi condiţii ambiante şi folosesc acelaşi tip de alimente, este dificil de afirmat că, factorii genetici sunt singurii implicati in apariţia leucemiei familiale; ar putea interveni în egală masură şi factori din mediul înconjurător. O evidență mult mai sigură a rolului factorilor genetici în leucemogeneza umană, se poate obtine din incidenţa crescută a leucemiei acute mieloide la pacienţii cu sindrom Down, cu anemie Fanconi sau cu sindromul Bloom, toate aceste afecţiuni fiind cunoscute cu anomalii cromozomiale.

Oncogenele şi anti-oncogenele în leucemiile umane

Genele implicate in patogenia cancerului probabil acționează prin două mecanisme generale:

Primul mecanism este acela in care se produce o modificare structurală a unei gene normale (o protooncogenă), are rezultat formarea unei noi gene (o oncogenă al cărei produs, o proteină, acţionează asupra celulei gazdă şi îi va induce caracteristice de malignitate.

Al doilea mecanism implică pierderea sau inactivarea unor gene a căror proteine suprimă cancerul, genele din această clasă sunt numite anti-oncogene sau gene supresoare tumorale. In general, ambele cazuri, ale unei antioncogene rămân inactive, până în momentul în care celula canceroasă dobândeşte un avantaj de proliferare.

Anti-oncogenele pot fi transmise ereditar. De altfel de aceea activarea oncogeneior şi pierderea anti-oncogenelor conferă celulei leucemice un potential de proliferare sau blochează diferenţierea ei normală şi în consecinţă moartea celulei.

Efectul oncogenei este dominant, astfel că în prezenţa unor genei normale de o parte și alta a oncogenei se va exercita numai efectul oncogenei. Oncogena este caştigată, dobândită, mai curând decât să fie moștenită.

Familiile de gene alterate in leucemi

Genele care au potenţial leucemogen în celule hematopoietice pot fi convenional grupate in 5 familii.

Prima familie este formată din gene a căror proteine transportă semnale care stimulează cresterea, de la membrana celulei la nucleu, exemplu familia de proteine ras.

A doua familie este compusă din gene a căror proteine activeaza transcriptia

Aceste gene prin proteine se leagă la ADN la o secventă specifică, aproape de „gena tintă“ și potențează sinteza ARN mesager. Această clasă de gene sunt in continuare subdivizate după structura proteinelor lor in: proteine care au helixul în forma de ansă; proteine care au leucina ca un situs activ şi proteine cu un domeniu LIM.

A treia familie de gene sunt implicate în diferenţierea tisulară. O parte din aceste gene conțin o structură denumită „homeobox", prezentă la organismele primitive. Alte gene din această familie fac parte din receptorii hormonali (tiroidă).

Majoritatea acestor gene asociate diferenţierii influențează transcripția altor gene, A patra familie este formată din gene implicate în procesul morţii programate a celulei. Multe celule cum ar fi precursorii granulocitelor, sunt programate prin gene specifice pentru diferenţiere şi apoi mor după o scurtă durată de viaţă, fenomen cunoscut ca apoptoză.

A cincea familie cuprinde anti-oncogenele care în mod normal functioneaza pentru a impiedica, a suprima dezvoltarea tumorii.

Corelatii ale anomaliilor unor gene cu tipuri specifice de leucemie

Variatele tipurilor de leucemie umană sunt in mare parte determinate atât de natura oncogenica cât şi de activitatea anti-oncogenei care se implică la nivelul diferenţierii celulei stem hematopoietice, unde în mod obişnuit se observă alterații genetice. Unele din gene le putem găsi într-o varietate largă de cancere, altele sunt asociate cu tipuri specifice de leucemii. Un exemplu de genă specifică leucemiei este gena c-abl, tal-1.

Cromozomul Phi, cromozomul Philadelphia a fost prima anomalie cromozomială identificată în cancer.

El este prezent în proporție de 95% in cazurile de leucemie granulocitară cronică. Se formează printr-o translocatie in care o parte a genei ber din cromozomul 22, fuzionează cu secventele „în aval“ ale genei abl din cromozomul 9.

Pro-oncogeneza abl, este o genă a cărei proteină transmite un semnal pe care il preia de la membrana celulei şi care aparent este legată de calea ras de transmitere controlând proliferarea celulară. Dacă are loc fuziunea accidentală c-abl cu ber, se rupe calea normală şi apar modificări aberante ale transmiterii semnalului cu rezultatul de proliferare celulară „normală" (neoplazică).

"Proto Oncogene c. abl (cromozomul 9) în mod normal codifică o proteina semnal, ce are activitate de tip tirozin-kinaza: ea adaugă grupări de fosfor la situsuri de tirozină din anumite proteine "tinta". Activitatea acestei kinaze in mod normal este activată prin legarea unei molecule specifice cum este un „factor de creştere" la receptorul său aflat la suprafaţa celulei. Dacă secvenţa ber (cromozomul 22) a fuzat cu c-abl,activitatea de kinază este crescută. In leucemia granulocitară cronică fuziunea bcr/abl, conduce la producţia unei proteine de fuziune (P 210) care este mai mare decât proteina genei abl normala, şi această proteină p 210 are o activitate crescuta de tip tirozin-kinază. Ca" rezultat,; nucleul unei celule din leucemia granulocitară cronică este stimulat în mod excesiv, aşa cum se prezintă in fig. 8-2.

Proteina genei hibrid ber/abl, pare să fie punctul de iniţiere al transformări maligne.

Acest cromozom Phi este prezent in leucemia acută limfoblastică la copii în procent de 5 şi 20 în leucemia acută limfoblastică a adultului. La copii punctul de rupere din apropierea genei ber este diferit decât în leucemia granulocitară cronică.

Produsul este o proteină cu greutate moleculară mai mică (P 185), dar şi aceasta modulează în mod anormal activitatea de tip tirozin kinaza.

O altă oncogenă specifică leucemiei umane este gena de fuziune a receptorrului acid retinoic (ROL) cromozom 17 cu gena PML (cromozom 1) care se observă în leucemia promielocitară(15, 17).

Anomalii genetice care se pot observa in mai multe forme de leucemii

Genele din familia ras. Genele din familia ras, aparţin unei familii cu cel puţin 50 de membri. Produsele lor sunt proteine monomerice, care se leagă reversibil şi hidrolizează guanozin trifosfat (GTP). Aceste proteine participă la transmiterea semnalului de la receptorul de membrană controland proliferarea şi diferenţierea la multe tipuri de celule. Genele ras devin oncogenice ca rezultat al unei mutații ilustrate in fig. 8:1. prin gena C. Sunt trei tipuri mari: N-ras; K-ras: H-ras şi la nivelul lor se descriu mutații punctiforme (un singur amino-acid) şi de asemenea se descriu într-un număr variat de cancere. Alterarea acestor gene, induce modificări conformationale ale proteinei ras care ii va altera funcţionarea ei în transmiterea semnalului şi ca rezultat va perturba proliferarea celulară.

Gena ras, în, mod.obişnuit tipul N-ras, cu mutație în codonul 12 sau 13, se observă în leucemii; este frecvent prezentă în leucemia cronică mielomonocitara (25-60% din cazuri); in leucemia acută mieloblastică a adultului (30%) in leucernia mieloblastică a copilului (16%) în leucemia acută pre-B-limfoblastică (14%) în leucemia granulocitară cronică (3%) (Tabelul VIII-14).

Oncogene comune implicate in leucemii

Boala	*Proto-onco-geneza*	*Proteina proto-oncogenei*	*Evenimentul care activează protooncogena*	*Prevalenţa activării*	*Efectele activării asupra funcţiei celulare*
LGC	abl	Tirozin-kinaza citoplasmatică	t (9;22), BCR de pe cromozomul 22 este translocată la abl de pe cromozomul 9	100	Proteina de fuziune BCR-abl (210 kD) cu activitate anormală de tirozin-kinaza
LAL cu celule B	abl	Tirozin-kinaza citoplasmatică	t (9;22) punctul de desfacere a BCR diferă de cel prezentat mai sus	5-25	Proteina de fuziune BCR-abl (190 kD)
LAL cu celule B	N-ras	Proteine care leagă GTP implicate în conversia semnalului	Mutaţie punctiformă	15	Proteina mutantă N-ras
LAM	N-ras K-ras H-ras	Proteine care leagă GTP implicate în conversia semnalului	Mutaţie punctiformă	25	Proteina mutantă ras
LAL cu celule T	myc gena TCR 2 şi beta	Localizată în nucleu; cu funcţie neprecizată	t (8;14), myc de pe cromozomul 8 este translocată la gena care codifică TCR de pe cromozomul 14 şi cromozomul 11	10-20	Exprimare anormală a genei myc

LGC - leucemia granulocitara cronică
LAL - leucemia acută limfoblastică
LAM - leucemia acuta mieloblastică
TCR - receptorul celulei T

Anti-oncogenele (genele supresoare ale tumorii)

La nivelul acestor anti-oncogene, se descriu, mutații, rearanjari, deletii care duc la inactivarea acestora sau chiar la lipsa genei supresoare a tumorii. Aspectul este ilustrat prin gena D din fig. 8.2. Sunt bine caracterizate trei prototipuri de anti oncogene: gena P53, pe brațul scurt al cromozomului 17, gena retinoblastomului pe cromozomul 13, şi gena tumorii Wills (WTI) pe cromozomul 11. T he Gena RBI (retinoblastomul) are ün produs de tip fosfo-proteină nucleara se leagă de ADN şi formează un complex cu o serie de proteine inductoare de tumori.

Gena RBI este necesară pentru dezvoltarea normală a sistemului hematopoietic.
Proteina produsă de gena hBl acționează în timpul tranziției de la Gi la faza S a acidului celular probabil in ,,armonie" cu un factor de transcriptie denumit E2F.

Anti-oncogena, gena supresoare a tumori p53, codifică şi ea tot o fosfoprotein nucleaza care se leagă de secvente specifice din ADN şi astfel modifică exprimarea altor gene. Ea este implicată în controlul proliferării celulare şi a apoptozei. Forme mutante ale genei p53, pot imortaliza celule, inducând o perpetua diviziune.

Anomalii ale genei retinoblastomului RBI se observă în procent de 10-30 din bate cazurile de leucemie acută în special în formele monocitare. Mutații ale genei p53 se observă numai in leucemiile acute. Atât p53 cât şi RBI sunt mai mult implicate in progresia din leucemie in limfoame decât în inițierea lor. Pr cromozomul 5 și cromozomul 7 se pot găsi antioncogene importante în evoluția leucemiilor.

Genele pentru imunoglobuline și pentru receptorul limfocitului T. (T.C.R.) in neoplaziile acestor linii celulare

Limfocitele B

In proliferare populaţiei limfocitelor B s-a descris fenomenul de fuziune al

genei, care conduce la modificarea procesului de transcripție la nivelul nucleului.

Dacă partenerul de fuziune este o oncogenă, expresia acestei fuziuni este o Neoplazie a celulei B. Vom enumera cele mai frecvent implicate gene in neoplaziile populaţiei B; oncogena C-myc, lyl-1, şi variate gene din familiile bcl.

In limfomul Burkitt s-a descris procesul de fuziune al genei, proto-oncogena C-myc din cromozomul 8 fuzionează cu gena pentru lantul greu din cromozomul 14. 1 (8:14). Oncogena c-myc, ca urmare a fuziunii, se va exprima anormal printr-o producție crescută de proteina. Proteina genei n myc interacţionează cu altă proteină, celulară şi influenţează" exprimarea unor gene implicate în proliferarea celulară. Exprimarea, anormală a genei c-myc in limfocitele B conduce la tabloul de leucemie sau limfom In limfoamele foliculare s-a identificat o familie largă de oncogene, familia bc12.

care reprezintă o fuziune intre gena pentru un segment de imunoglobulină aflată pe cromozomul 14 şi o genă aflată pe cromozomul 18. Această genă.bcl, face parte dinir-o familie de oncogene care în mod normal reglează apoptoza (moartea programată a celulei). Proteina bel 2 probabil blochează apoptoza, şi astfel este implicată în menţinerea pentru mult timp a memoriei imune. In limfoamele foliculare, translocația genei bel-2 se exprimă prin nivele crescute, şi astfel celulele vor supravieţui.

- În acest caz gena A de fuziune din modelul general este compusă din gena imunoglobulinei aflată pe cromozomul 14, cu gena B de fuziune (gena bol, pe cromozomul 18)

Un al treilea exemplu de fuziune al genei imunoglobulinei este bel-1, prezentă în anumite limfoame B, ocazional în leucemia limfatică cronică, şi în mielomul multiplu. Aceste limfoame sunt cu un grad intermediar de agresivitate şi recunose tipul centrocitic. Gena bcl l-ar putea funcționa ca o ciclină în momentul G al diviziunii celulare.

Limfocitele T

Genele care codifică segmente din receptorul limfocitului T (TCR). care normal, format din heterodimeri a şi B se află pe cromozomul 14 şi pe cromozomul 7 (fragmentul beta). Procesul de fuziune se produce între o proto oncogenă şi genele normale ale receptorului T. Gena A este proto-oncogena, iar gena B este gena receptorului limfocitului T. Procesul de fuziune se pare că ar avea loc în momentele normale de dezvoltare a pópulaţiei T în contextul timusului?

În leucemiile acute cu limfocit T, variate gene, în special gene pentru factorii de transcriptie pot fuziona cu genele receptorului T (cromozomul 14; 7). Aceşti factori de transcripţie anormali aparuti din genele de fuziune,"vor juca un rol dominant, acoperind efectul factorilor normali de transcriptie: si astfel limfocitul T are o expresie aberantă, care conduce la leucemie. Un exemplu clasic este gena Tug i care fuzionează cu HOX-i, in limfocitele T, naive" din timus şi astfel se va dezvolta tabloul de leucemie acută limfoblastică.

Alte anomalii genetice in proliferările maligne ale celulei B si T

O anomalie care poate fi prezentă în leucemia acută cu limfocit B. este activarea unui factor de 'transcriptie (cu model helix în ansă") E2A, aflat pe cromozomul 19, care devine oncogenic prin fuziunea cu o genă primitiva comuna PBX1, aflată pe cromozomul 1 t (19:1) sau cu o gena HLF alata pe cromozomul 17 (19:17). HLF este o genă normal exprimată în ficat, rinichi, aşa cum am descris pe cromozomul 17, care poate induce o neoplazie in tesutul hematopoietic dacă fuzionează cu un factor de transcriptie E2A. 2319 S O nouă genă NRX, care probabil normal intervine in primele faze "ald hematopoiezéi, se află pe cromozomul 11. Această gena HRX poate äctivată prin variate translocari pe alți cromozomi; a fost descris acest aspect de activate a unei 'oncogene (ex. HRX) in leucemia limfoblastică, leucemia mieloblastică acută, în boala Hodgkin, în leucemii post-tratament,"şi-n limfoame non-hodgkin. Ele apar la copiii de vârstă preşcolară şi celulele au fenotip limfoid şi mieloid Un ultim exemplu de genă de fuziune cu capacitate oncogenică este gena SGL descoperita in leucemia cu celulă stem. Proteina produsă de această gena de fuziune are o structură (helix dublu în ansă) şi este prezentă în compoziția unor factori de transcripție. În leucemia acută limfoblastică cu celulă-T, gena, SCL este găsită pusă peste o altă genă S.I.L. SIL este o genă universal prezentă în celule hematopoietice şi în rearanjari cromozomiale amintite şi permite, o exprimare aberantă a genei SCL (din celula stem hematopoietică).

ASPECTE COMUNE TUTUROR LEUCEMIILOR

Există un număr de aspecte care pot fi comune, pentru toate tipurile de leucemii. Acestea sunt:

1. infiltrarea şi înlocuirea măduvei osoase cu celule leucemice, ceea ce cauzează anemie, neutropenie şi trombocitopenie (pancitopenie);

2. infiltrare a altor ţesuturi şi organe cu celule leucemice;

3. creşterea metabolismului bazal, când turnover-ul masei celulare maligne este mare, ceea ce conduce la pierderea în greutate, şi transpirații profuze (semne clasice pentru hiperactivitate metabolică).

Semnele clinice cele mai comune ale leucemiei sunt legate de infiltraţia măduvei osoase. Astfel, anemia cauzează, astenie psihică, oboseală fizică, dispnee.

Neutropenia, agravată prin tratamentul citostatic, determină infecţii severe bacteriene (pneumonii şi septicemii). Trombocitopenia explică sindromul hemoragic cutanat şi mucos.

Infecţiile cu gram negativi predomină, flora intestinală a pacientului fiind sursa septicemiilor. Bacteriile implicate sunt: Escherichia coli, Klebsiella sau Pseudomonas aeruginosa. Se pot remarca şi infectii cu gram pozitivi - stafilococ auriu.

Alte microorganisme mai puțin obişnuite -cum ar fi stafilococul epidermidis, pot de asemenea implicate ca o consecință a implantării catetelor. Când tratamentul citotoxic produce o imunodepresie marcată, pot apărea infecţii cu agenţi oportunisti (infecţii prezente ocazional, la indivizi cu un sistem imun normal, dar frecvente la imunodeprimati), de exemplu cu Candida, Aspergillus, Pneumocystis carinii.

De asemenea neutropenia poate fi asociată şi cu infecții generalizate şi fulminante cu virusuri (herpes simplex, herpes zoster). Manifestari hemoragice sunt reprezentate de purpură, epistaxis, sângerări gingivale, hematoame, secundare unor traumatisme
minore în regiunea poplitee, pe fata dorsală a coapsei, datorită poziției şezânde, Mai puţin frecvente sunt sângerările la nivelul altor organe: ochi, sistem nervos, central, ureche internă.
Infiltrarea medulară şi extramedulară variază în cele două tipuri de leucemie, acută şi cronică, în funcție de stadiul de progresie a bolii Afectarea extramedulară este la rândul ei dependentă de tipul predominant de celulă blastică.

LEUCEMIILE ACUTE

Leucemia acută limfoblastică

Leucemia acută limfoblastică (1.a. B.) este o proliferare clonală a precursorilor limfocitari; se recunoaşte prin caracteristici genetice şi imunologice Anomaliile genetice conduc la o proliferare crescută celulară, diminuarea diferenţierii celulare şi la procesul morții programate a celulei (apoptoza).
Aceste două aspecte ale fenotipului leucemic determină o excesivă infiltrare şi acumulare de limfoblaşti în multiple organe, ceea ce realizează o insuficienta hematopoiezei normale şi organomegalie.

Leucemia acută limfoblastică a fost prima boală malignă care răspunde partial la chimioterapie.

Incidenţă

Leucemia acuta limfoblastică are incidenţa cea mai mare sub 10 ani : există un număr mai mic si după vârsta de 50 de ani. La copii, vârful incidentei se afla între vârsta de 3-7 ani

Aspectul clinic

Aspectul clinic al acestui tip morfologic de leucemie este asemănător la copil şi la adult. Acuzele bolnavului se datoresc absenţei de celule sanguine normale si acumulării biaştilor în toate tesuturile

Al treilea simptom clinic este durerea osoasă spontana chiar artralgii rebele, mersul schiopătat al copilului.

Durata între apariția simptomelor de boală şi primul consult medical este varianta: 1 săptămână în medie 6 săptămâni şi exceptional 1 an.

Pacientul prezintă o stare de oboseală, lipsă de putere la eforturi fizice obisnuite. Poate fi remarcată de familie o paloare a Tegumentelor

Al doilea semn clinic este legat de trombocitopenie; sângerări moderate la nivelul mucoaselor sau erupție petesiala pe tegumente, Neutropenia – datorată insuficientei medulare conduce la infectii bacteriene aparent normale pentru tineri dar cu un aspect rezistent tratament: otită medie, faringoamigdalita pultacee uneori necrotice, pneumonii

Un alt simptom clinic mai rau e reprezentat de dureri abdominale si la proporţie mică de 10% din copii tineri, vor fi prezente adenopatii-importante, cefalee şi varsaturi datorită meningitei leucemice

Examenul clinic complet este mult mai ‚expresiv“ pentru o posibilă boală malignă, decât în cazul leucemiei acute mieloblastice:

-paloare: medie sau accentuată;

-peteşii, echimoze la 3 din bolnavi, epistaxis sever sau hemoragie digestiva până la şoc hemoragic.

-adenopatii superficiale şi adenopatii profunde la 1/2 sau 2/5 din cazuri. Uneori sunt tumorale cu fenomene de compresie (ex. sindromul de cava superioară);

-splina este mărită in 2/3 diri cazuri.

Aceste date clinice obiective se completează cu semnele generale de boală: febră, transpiratii profuze, dureri osoase, scădere in greutate.

Datele de laborator

Anomalii in sângele periferic în măduva osoasa

În hemogramă distribuţia numărului de leucocite la copii si la adulti sunt diferite

O treime din cazuri au un număr de leucocite sub 5.000/mm, uneori un numar intre 2000-1000 /mm'. O treime din cazuri au un număr între 5000-20000 /mm3. Un procent de 10, la copii şi 17, la adulţi, poate consemna la prima hemogramă un număr de peste 100.000 Lcí/mm'. Din tabelele comparative se poate observa că la adulți, procentul de cazuri cu număr crescut de leucocite este mai mare decât la copii.

Anemia și trombocitopenia sunt prezente in majoritatea cazurilor. La 1/4 din copii la debut anemia poate fi severă cu 5 g Hb/dl la debut. Ea se asociază cu număr mic de reticulocite. Numărul de trombocite obişnuit este între 50.000-100.000 /mm.

Puncţia sternală este cu aspirat medular hipercelular. Amintim cazuri in care puncția este albă, fiind prezentă necroză medulară.

Anemia aplastică poate fi o forma foarte rara de debut a acestui tip de leucemie acută. Această aplazie raspunde prompt la corticoterapia. A doua forma foarte rara de debut este cu hipereozinofilie.

Examinarea frotiului de sânge. sau de măduvă osoasă descrie prezenta în procente variate a limfoblaştilor: Recunoasterea morfologică este un moment esențial pentru diagnosticul leucemiei acute limfoblastice

Aspectul morfologic al limfoblastului permite clasificarea morfologică a leucemiilor acute conform sistemului FAB (French American British) in 3 tipuri morfologice:(L1 . 12; L3)

Clasificarea FAB a leucemiilor acute limfoblastice

Categoria FAB	Aspecte ale limfoblaştilor leucemici - în măduva osoasă - în sângele periferic
L_1	Celulă mică, citoplasmă redusă şi aspect uniform
L_2	Celulă mare, pleiomorfică cu citoplasmă abundentă
L_3	Celulă mare, cu citoplasmă bazofilă, moderat abundentă şi numeroase vacuole (celule asemănătoare cu cele descrise în limfomul Burkitt)

Citochimia este efectuată pe frotiul de sânge periferic sau pe amprente de măduvă osoasă. Din tabelul de comparaţie limfoblast/mieloblast, observăm că:

mieloperoxidazazele sunt negative;
coloraţia cu P.A.S. (Periodic acid Schiff) intens pozitivă cu frecvente agregate in citoplasma;
coloraţia SUDAN este negativa;
coloratia pentru esteraze este negativă;
Coloratia pentru fosfataza ,acidă este, pozitivă în procent mic pentru Limfoblasti tip T.

Imunofenotiparea leucemiilor acute limfoblastice

In leucemia acută limfoblastică pot prolifera limfoblaşti de tip B foarte puţin diferentiati (celula timpurie pre B; celula preB si limfoblastul B), limfoblaşti T sau limfoblaşti nuli. Limfoblaştii nuli nu nu antigene(nic) din clasa B nici din clasa T.

Posibilitatea de a diferenţia prin imunofenotipare a leucemiilor acute a început m 1975. Aspectul limfoblaştilor prin imunofenotipare variază cu vârsta."

Incidenta celor 4 forme majore de leucemie acuta limfoblastica la copii (modificata dupa Grist 1985)

Imunofenotipul celulei leucemice	*Procent*
Celulă timpurie pre-B	67,2%
Celulă pre-B	18,0%
Celulă B	0,6%
Celulă T	14,2%

Clasificarea imunologica a leucemiilor acute limfoblastice (dupa Sallan ES 1997)

Subtipul	*Profilul de expresie al antigenului*	*Frecvenja (%)*	
		Copii	*Adulți*
Limfoblast B timpuriu (Early pre-B)	CD19+; CD22+, CD79a+, CD10±, CD7-, CD3-[a], cIgμ-, sIgκ-, sIgλ-	57-65	50-60
Pre-B	CD19+, CD22+, CD79a+, CD10±, CD7-, CD3-[a], cIgμ+, sIgμ-, sIgκ-, sIgλ-	20-25	15-25
Limfocit de tranziție	CD19+, CD22+, CD79a+, CD10±[b], CD7-, CD3-[a], cIgμ+, sIgμ+, sIgκ-, sIgλ-	2-3	?
Limfoblast B	CD19+, CD22+, CD79a+, CD10±[b], CD7-, CD3-[a], cIgμ+, sIgμ+, sIgκ+, or sIgλ+	2-3	4-6
Limfoblast T	CD19±[c], CD22-, CD79a-, CD10±[b], CD7+, CD3+[a], cIgμ-, sIgμ-, sIgκ-, sIgλ-	13-15	20-25

Ige = imunoglobulina citoplasmatica; Iga = imunoglobulina de suprafata: kappa/K sau lambda miu) = proteina lanţului greu care apare de la nivelul de pre-B şi se menține caracteristică pentru toţi limfoblastii de tranziţie şi de tip B.

CD10 denumit şi CALLA sau antigen comun limfocitar este prezent și în seria Hi in sena T chiar in proporţie de 50% din cazurile cu celula T.

Prescurtarea b 50% din cazuri.

În clasificările imunologice obişnuite apare un tip de leucemie acută cu limfoblast, nul". Aceştia sunt limfoblaşti care nu prezintă nici markeri de celula T, nici CD10+ (antigenul comun al leucemiei acute limfoblastice) Retinem ca in ultimul tabel (1997) această încadrare imunologică nu mai apare.

O altă remarcă este aceea că în panelul de antigene lipsesc CD 13 şi CD 33, care identifică seria mieloida.

Date de citogenetică (aberatiile genetice) Aspectul modificărilor citogenetice este un subiect mult dezbătut în ültimii an În anul 1997 se pot descrie următoarele:

-hiperdiploidie 50 de cromozomi observați în special in leucemii acute limfoblastice cu forma cu celule timpurii - pre-B cu CD10+ şi mai rar în celelalte forme;

-pseudo ploidie cu translocaţie t (8:14), 1.(2:8) sau (8:22) se observă atât la copii cât şi la adulţi în proliferarea cu celula B sau T.

Aceste modificări genetice corespund la nivel molecular unor gene identificate.

Linia B - (8:14) corespunde oncogene C myc

Linia T-t (1:14) corespunde oncogenei pentru receptorul celulei T.

La o proportie de pacienți 12% la adulți, 2-3% la copii, se poate descrie cromozomul Ph1 (bcr/abl) care deosebit de anomalia din leucemia granulocitară cronică, produce o proteină p185, cu funcţie tot de tirozin kinaza. Pe tabelul de anomalii genetice recent se inscriu anomalii care privesc familia factorilor de transcripţie (exemplu gena TEL pe cromozomul 12)

Diagnosticul diferențial al leucemiilor acute limfoblastice

Se impune cu alte forme acute de leucemie cu celule blastice greu de identificat morfologic, cu limfom non-hodgkin in stadiul IV, cu anemia aplastică sau cu sindromul limfoproliferativ acut din infectii virale, din mononucleoza infecţioasă. O menţiune specială o facem pentru diagnosticul diferenţial în cazuri rare la copii cu neuroblastom care poate afecta şi măduva osoasă.Uneori neuroblaştii pe frotiul de sânge periferic se aseamănă cu limfoblaştii.

Factori de prognostic (risc)

Aspecte	*Risc relativ*
Număr leucocite > 10 × 10 9/dl	2,2
Masa mediastinală	2,8
Sex	M/F = 1,8
Splenomegalie	1,9
Vârstă	1-9 ani = 4,1
Hepato-splenomegalie	>10 ani = 2
Număr trombocite 10 9/dl	1,6
Adenopatii	<50/<50=1,4
Morfologia blastului	1,8
FAB	L2/L1=1,9
IgM	L1+L2/4 = 1,5
Determinarea cerebro-meningee	1,4
la diagnostic	1,5
IgA	1
IgG	1

Din acest tabel foarte minuțios realizat reținem cei mai importanti factori de prognostic sever sau rezervat:

-varstă: sub vârsta de 1 an, peste vârsta de 10 ani;

-afectarea sistemului nervos central, afectarea testiculară (sanctuare pentru limfoblaşti"); determinarea mediastinală: mai frecvente la copii de sex masculin și limfoblastul are imunofenotip tip B;

-numărul de leucocite la debutul bolii**;**

-anomalii cromozomiale: cromozomul Ph (9:22), mai frecvent la adulţi (17-25% din cazuri) şi limfoblaştii aparțin în special liniei B: 1 g O altă anomalie cromozomiala (4:11) şi anomalia 1 (1:19): anomalia (8:14) aparține în special grupului L3

- dintre formele clinice comune de leucemie acută limfoblastică forma L2 şi L3 în special la copii au prognostic rezervat.

Dorim să menționăm că datele de citogenetică din toate formele de leucemie acută, limfoblastică au nevoie de o prelucrare statistică elaborată;, un grup semnificativ de bolnavi cu o anumită anomalie cromozomiala.

Tratamentul

Tratamentul leucemiei acute limfoblastice, impune un efort deosebit din partca medicului, pentru a obține o remisiune completă, disparitia blaştilor din sângele periferic, din măduva osoasă, din lichidul cefalorahidian. Controlul remisiunii se face astăzi prin metoda PCR pentru a descoperii boala reziduala.

Medicamente indicate in tratamentul leucemiei acute limfoblastice

Deceniul de timp al introducerii în practică	*Mecanism de acțiune*	*Calea de administrare*
1940-1950		
Methotrexat	Inhibă dihidrofolat-reductaza	per os: i.m., i.v. intratecal
Prednison	Probabil induce o proteină aberantă	per os, i.v.
Mercaptopurina (Purinethol)	Inhibă sinteza de proteine-defect de sinteză de ADN	per os
Ciclofosfamida	Reacționează covalent cu ADN	per os, i.v., i.m.
1960		
Vincristin (Oncovin)	Rupe microtuburile Inhibă ciclul celular	i.v.
Daunorubicina	Inhibă sinteza de acizi nucleici	i.v.
Cytarabina (Cytosar; Alexan)	Inhibă acțiunea ADN-polimeraza	i.v., subcutan, intratecal
L-asparaginaza	Reduce concentrația celulară de arginină	i.v. sau i.m.
1970		
Epipodophylotoxine [Etoposide (VP-16)]	Interacționează cu topoisomeraza II și afectează ADN	i.v. și per os
Vepeside (VP-26)		

Modelul de tratament respectă modelul clasic din leucemiile acute

1. Inductia remisiunii.
2. Menţinerea remisiunii, consolidarea remisiunii, profilaxia infiltrarii sistemului nervos cèntral
3. Intensificarea tratamentului când se folosesc schemele complexe cu multipli agenţi alkilanţi.

Toate schemele aprobă un tratament continuu pe o perioadă de 12 luni.

Profilaxia recăderii sau infiltrării meningee se face cu Methotrexat intrarhidian sau/şi cu iradiere.

La iradiere dozele variaza: 2 400 cGy - 1 800 cGY Tratamentul suportiv.

Dacă valorile acidului uric sunt crescute, sau chiar profilactic, se introduc medicamente uricozurice: allopurinol (Milurit). Doza acestor medicamente este del 600-800 mg. Hiperhidratarea per os şi pe cale intravenoasă.

Dacă este prezentă o hiperuricemie la primele date de laborator şi ea se asociază cu un număr crescut de leucocite există riscul nefropatiei interstitiale hiperuricemice și este bine să fie indicație de leucofereză înainte de aplicarea unei scheme cu citostatice. Se face o atentă profilaxie pentru pneumocystic carinii şi aspergillus

Transplantul medular poate fi o indicaţie de tratament în formele de leucemie acută limfoblastică după obţinerea unei remisiuni complete. Este indicat heterotransplantul, transplantul medular autolog sau transplantul cu celule stem,

Un alt aspect care trebuie reținut în monitorizarea copiilor cu leucemie acută limfoblastică sunt efectele tardive ale tratamentului: efecte endocrine, nanism, sterilitate primara, amenoree.. Există consecinţe neurologice uneori complexe şi la un procent de copii cu o capacitate redusa de concentrare a atenției in orele de şcoala.

O altă complicatie rară, poate fi a doua neoplazie la un interval de timp,in special la copiii trataţi cu Etoposide sau Vepeside (ep podophyllotoxin) care pot să dezvolte tabloul leucemiei acute mieloblastice

Cauzele de deces:

- infecţii intercurente bacteriene, virale, virusul citomegalovirus, herpetic.
- infectii cu fungi sau parazitare (pneumocystis carinii);

- sindrom hemoragipar sever cutanat şi mucos, uneori cu tablou de coagulare diseminată intravasculară acută:
- insuficienta renală grefată pe nefropatie; meningita leucemică;
- insuficiență hepatică, renală sau insuficiență respiratorie severă;
- complicații severe de ritm cardiac care să survină secundar supradozării de antracicline:
- ileus paralitic (administrarea de Oncovin, Vincristin).

În schemele de inductie obişnuite se folosesc următoarele medicamente:

- Prednisonul; dexametazona.
- Vincristin.
- Derivaţi de antracicline (Adriblastina).
- L-asparaginaza.
- Etoposide (folosit dacă de la debut este o formă severă).

În schema de mentinere şi consolidare a remisiunii sunt indicate:

- Metotrexat.
- Purinethol + profilaxia determinării în SNC.
- Prednison.

Schema de reinductie sau intensificare indică;
- Prednison
- . Vincristin.
- Derivații de antracicline (Doxorubicina)
- L-asparaginaza.
- Etoposide; Vepeside
- Cytosin Arabinoside (Cytosar).
- Ciclofosfamida.

Eforturile de tratament pot îmbunătăţi pentru o proporție(4,8%), de copii, cei cu factori de prognostic favorabil, perioada de remisiune completă pentru 5 ani.

Adultii şi bolnavii cu leucemie cu fenotip T, in contrast cu copiii ,au un prognostic mult mai favorabil cu 59% perioada de remisiune completă, şi din tot grupul de adulti cu leucemia acuta tip T - 31% pot rămâne 5 ani fără semne de boala.

Perioada de remisiune completă a leucemiei acute limfoblastice poate fi intreruptă de două aspecte patologice majore. Primul este legat de variate manifestări de tip neurologic secundare aplicatiilor intrarahidiene precum şi manifestările neuropsihologice induse de iradierea transcraniană. Al doilea aspect este riscul unei neoplazii secundare, care este mic dar este imposibil sa fie prevăzut când se prescrie tratamentul salvator.

Copiii aceştia dezvolta leucemia acută mieloblastică translocatie implică cromozomul.11q23

Cu toate acestea, astăzi eforturile întâlnirilor de grup, a specialiştilor a discuţiilor purtate la simpozioane, măresc în ansamblu procentul de copii şi adulţi care pot beneficia de o lungă perioadă de remisiune, şi probabil astfel de noi achizitii terapeutice

Leucemia acută mieloblastică

Leucemia acută mieloblastica este o boală produsă prin transformarea malignă a celulei stem pluripotente hematopoietice. Aceasta celula stem transformată are o capacitate crescută de autoreduplicare care este asociată cu diferentierea și maturația anormală ducând la acumularea de celule imature, blastice.

Virchow, în 1845, a recunoscut leucemia (celule albe sanguine: 'In 1875 Friedreich descrie evoluţia acută a leucemiilor.

Epidemiologie

Leucemia acută mieloblastică are "o incidență de 2-3persoane la 100.000 locuitori. Incidența creşte uşor cu vârsta şi ajunge la 15 persoane la 100 000 locuitori peste vârsta de 80 ani. In leucemia acută mieloblastică vârsta medie este de 55 ani.

Etiologie

Cauzele care produc leucemia acută mieloblastică nu, sunt cunoscute; afirmațiile se referă la condiţii predispozante. In acest grup, sunt enumerate următoarele:

Iradierea: explozii nucleare de război, catastrofe nucleare, iradiere cu doze mici, dar prelungite, care au fost indicate inainte de 1975 în spondilita anchilopoetică.

Agenti chimici. Expunerea la benzen profesională (muncitori-din-industria de încălțăminte); folosirea medicaţiei alchilante (derivaţi de lazotliperită, Clorambucil, Melphalan); indicația de fenilbutazonă şi Cloramfenicol. Pesticidele, insecticide au şi ele un risc leucemogen.

Virusurile. Retrovirusurile, clar, a fost demonstrat că pot produce leucemia la soareci pisici, pui. Un virus implicat la om, ar fi virusul leucemiei umane descris in special in Japonia şi aria Caraibelor. Este denumit internasional H.L.T.V -1.

Relația retrovirus-oncogenele umane este astăzi un subiect de studiu foarte atent.

Aspectul clinic al leucemiilor acute mieloblastice

În leucemia acută mieloblastică simptomele sunt nespecifice, oboseală fizică şi psihică, pierdere in greutate, febră, sângerări la nivel de tegumente şi mucoase.

Aceste semne preced momentul diagnosticului în medie cu 6 luni, 3 luni.

Se cunoaşte un procent mic, cu debut" inocent" când diagnosticul de leucemie acută mieloblastică se pune la o hemograma de rutină la un bolnav asimptomatic.

Debutul clinic agresiv la un procent aproximativ 50 din cazuri va fi prezentat prin sindrom hemoragipar sau sever pe tegumente, mucoase (epistaxis, bule hemoragice în cavitatea bucală) petesii numeroase pe tegumente. La aceşti bolnavi, se descrie febră înaltă însotita de o determinare infectioasa severa (pulmonara, cavitate bucala)

La o proporţie de 5% datorită numărului mare leucocite, apare fenomenul de leucostază manifestat prin tahipnee, stupoare, comă, deces prin accident neurologic.

La examenul fizic nu există semne clinice specifice pentru leucemia acuta mieloblastică. În majoritatea.cazurilor, lipsesc adenopatiile, hepato-splenomegalia.

La un grup restrâns de bolnavi durerea osoasă este însoţită de durere la percuţia sternului, a tibiilor sau compresia arcurilor costale. Semn specific pentru leucemia acută monocitară este hipertrofia gingivală dureroasa sau infiltrate cutanate de dimensiuni mici care au o dispozitie pe toată suprafata corporală: se prezintă ca noduli subcutani, de culoare violacee închisă.

In mod exceptional, la primul examen fizic, atent al bolnavului se descriu, tumorete compuse din mieloblasti,denumite „cloroame" (chloros = verde); acestea pe secțiune la colorație, datorită

peroxidazelor au culoare verde. Sunt Situate in special orbital, in sinusurile paranazale, creier os, sân, piele și in tesütul subcutan.

Analiza sângelui periferic şi a măduvei osoase

Hemograma poate să fie un element de sprijin pentru diagnosticul leucemiei acute myeloblastic Numărul de leucocite poate varia între limite foarte mari 10 000 leucocite/mm - 100 000 leucocite/mm.

Majoritatea pacientilor vor avea la prima hemogramă un număr de leucocite mai mic de 50 000/mm 10000-50000 leucocite/mm). La un procent de 15-20 (1/3 din bolnavi) numărul de leucocite va fi peste 100 000/mmº. O proporție de 10% vor avea leucopenie moderată sau severă, 1 000 leucocite/mm'.

Valoarea hemoglobinei, a hematocritului este moderat scăzută la majoritatea pacienţilor (hematocrit 25% - 33%). În cazuri rare de leucemie acută forma promielocitară aspectul anemiei este de tip anemie hemolitică microangiopatică.

Pe frotiul de sânge periferic se descriu prezenţa mieloblaştilor în procente foarte variate: Se examinează atent şi repetat aceste celule tinere mononucleare, unele cu corpi Auer. Pe frotiu, acest aspect morfologic perimite clasificarea morfologică a leucemiilor acute mieloblastice după modelul „Clasificarea F.A.B.” in 7 tipuri morfologice. Pe frotiu se mai descrie anomalia Pelger Huet şi neutrofile hipogranulare.

Puncţia stermală poate fi cu măduvă hipercelulară, în rare cazuri hipocelulară în special la pacienţii vârstnici. La examinarea maduvei osoase, numărul de blaşti trebuie să fie peste 30% conform criteriilor F.A.B. Dacă punctia este „albă“ sau săracă se impune puncția biopsie a măduvei osoase. Un număr mic de pacienţi au mai puțin de 30% de blaşti in măduvă osoasă dar in contrast, în sângele periferic blaştii sunt peste 30%.

Criterii de diferenţiere intre limfoblastul şi microblastul leucemic

	Limfoblast	*Mieloblast*
nucleoli	1-2	2-5
citoplasmă	redusă	moderată
corpi Auer	absenţi	uneori prezenţi
colorajie SUDAN	negativă	pozitivă
peroxidare	negative	pozitive
PAS	pozitivă; blocuri mari sau granulaţii evidente de material colorat pe un fond negativ	negativă sau o tentă difuză cu fine granulaţii
cloracetat esteraza	negativă	obişnuit pozitivă
terminal deoxinucleotidil transferaza (TdT)	pozitivă	obişnuit negativă
markeri imuni	markeri pentru: limfocitul T (CD2, CD3) şi limfocitul B (CD 10, 19, 20)	markeri pentru linia mieloidă (CD13, CD15, CD33, HLA - DR)

Etapa de laborator urmatoare este aspectul citochimic al celulelor blastice. Coloratia pentru mieloperoxidaze ++/+ este prezenta in toate tipurile de leucemie acuta mieloblastica cu exceptia leucemiei acute cu megacarioblasti (M7)

Coloratia chimica in leucemiile acute mieloblastice

Coloraţia citochimică în leucemiile acute (F.A.B.) mieloblastice

Mieloperoxidaze	P.A.S.	Sudan	Esteraze
M1 +	-	+	-
M2 +	-	+	
M3 +	-	+	
M4 +	-	-	
M5 -	-	-	
M6	+	-	
M7 -	+	-	

Coloratia Sudan pozitiva pentru mieloblasti.
Coloratia pentru cloracetat-esteraza pozitiva pentru monoblasti din tipul M4, M5
Coloratia PAS pozitiva in eritroblasti maligni - M6

Datele citogenetice sunt un subiect in studiu în grupul de leucemii acute mieloblastice.

Cea mai caracteristică anomalie este translocaţia cromozomiala t (15; 17) asociată cu leucemia acută promielocitară (M3) forma hipergranulară sau hipergranulara.

La 25% din pacienti se descrie o anomalie a cromozomilor (aneuploidie) sau de structură (pseudodiploidie). Anomalii citogenetice prezente în procent semnificativ sunt:

- trisomia 8:

- monosomia 5 (-59);

- monosomia 7 (-79);

- translocaţia cromozonială t (8:21); t (9:11); 1 (9:22)

Imunofenotiparea:

Imunofenotipul in leucemiile acute mieloblastice

Tipul morfologic	Obişnuit pozitiv
Mieloblastic	CD11, CD13, CD15, CD33, HLA-DR
Mielo-monocitar	CD11, CD13, CD14, CD15, CD33, HLA-DR
Eritroblastic	glicoforin, spectrini HLA-DR
Promielocitară	CD11, CD13, CD15, Cd33
Monocitar	CD11, CD13, CD14, CD33, HLA-DR
Megacarioblastic glicoproteina Ia, IIb/IIIa, IIIa	CD61, CD42

Aprecierea stării de sănătate a unor bolnavi cu leucemie acută mieloblastica se completează cu date de laborator, în care este obligatoriu să determine lactat dehidrogenaza, care obişnuit este crescută, valoarea acidului uric crescută, care creşte în cursul tratamentului. Anomaliile echilibrului ionic trebuie mentionate:hiponatremia, hipernatremia severă (ca o consecinţă a diabetului insipid, hipopotami scmia şi hiperkaliemia cu multiple cauze.

Datele care evaluează hemostaza, completează investigarea corectă a unui bolnav cu leucemie acută. Ea trebuie să fie complexă, dacă sindromul hemoragipar este sever (cum este

cazul leucemiei promielocitare sau în formele de leucemie acută la debut cu sindrom hemoragipar). Se indică determinarea fibrinogenului D-dimeri, timpul partial de activare a protrombinei, timpul de protrombină, timpul total de trombina.

Tratamentul

Tratamentul are trei etape

- inducerea remisiunii;

-menținerea;

- consolidarea remisiunii
Curele de tratament dureaza 6-12 luni.

Principalele medicamente indicate in leucemia acuta mieloblastica

Medicament	*Etapa de evoluţie*	*Calea de administrare*
1. Cytosin arabinosida	Inducţie	i.v., subcutan
2. Derivaţi de antracicline	consolidare	i.v. (f. atent)
Daunorubicina	inducţie	i.v., dar şi produs per oral
Doxorubicina	inducţie	per os
Idarubicina	remisiune	i.m., i.v., per os
3. Acidul retinoic	inducţie	intratecal
(Tretinoin)	remisiune, consolidare	i.v.,
4. Purinethol	inducţie	i.v., per os
(6 mercapto-purina)	remisiune	i.v.
5. Methotrexat	în perioada	i.v. (bolus)
6. Etoposide	de consolidare	
Vepeside	în leucemii acute refractare	
7. Mitoxantrone	în formele refractare	
8. Amsacrine		

Inducerca remisiunii, prima etapă de tratament, are ca scop reducerea sub 5% a blaştilor in sângele periferic şi in măduva osoasă. Protocoalele curente, contin două medicamente pentru prima cură; se administează citosin-arabimosida (Cytosar, Alexan) şi derivati de antraciclina. Un alt protocol curent conține cetosifiarabinosida, derivati de antraciclină şi 6-thioguanină.(DAT).

Din colaborarea grupelor de studiu privind leucemia acută s-au desprins urmatoarele concluzii: administrarea de citosin-arabinosidă este eficientă în perfuzie continua (2 ori/zi) (după formulă) timp de 7-3 zile sau 5-2 zile.

Derivaţii de antraciclină au toxicitate cardiacă, motiv pentru care nu trebuie depăşită doza de 500 mg/m2 de suprafață corporală timp de 1 an. Induc insuficienţă cardiaca ireversibilă. În ultimii ani s-au căutat derivaţi cât mai accesibili. Noul produs epirubicină (doxorubicina) poate fi administrat" pe cale intravenoasă și orală.

Modele de tratament in leucemia acuta mieloblastica

	Medicament	Doză mg/m²	Calea de administrare	Timp de administrare	
1	Daunorubicina Citosin-arabinosida (Cytosar)	45 100-200	i.v. i.v. perfuzie continuă	1, 2, 3 zile sau 1-7	1,2 zile 1-5 zile
2	Daunorubicină Citosin-arabinosida Thioguanin	60 100 100	i.v. i.v./12 h p.o./12	1,2,3 sau 1-7 zile sau 1-7 zile sau	1,2 1-5 zile 1-5 zile
3	Mitoxantrona Citosin-arabinosida	12 100	i.v. i.v./perfuzie continuă	1, 2, 3 sau 1-7 zile sau	1,2 1-5 zile
4	Citosin-arabinosida L-asparaginaza	3000 6000	i.v./12 h µg/m² i.m.	1-2 zile sau 1-2 zile sau	ziua 8-9 ziua 8-9

L-asparaginaza se administrează-timp de o oră după 2 zile de la administrarea megadozei de citosin-arabinozidă (3.000 mg/m2).

In cursul tratamentului de inducţie, în timpul emisiunii, dacă se atinge pragul de pancitopenie se pot indica factori stimulatori de crestere ai hematopoieze:Neupogen, Leucomax, Filgrastim. Ei Sunt indicaţi în special la pacienţii vârstnici ameninţaţi de sindromul hemoragipar .

Studiile din ultimii ani combină terapia de inducere, a remisiunii, cu factorii de creştere hematopoietici, în ideea de a mobiliza celule blastice în ciclul celular, cand ele sunt sensibile la medicament. Termenul de chimioterapie secventiala se referă la aplicarea unui al 2-lea ciclu de tratament care să coincidă cu nivelul crescut de ADN în celulele blastice leucemice. In această perioadă celulele blastice sunt stimulate de factori tumorali proprii gazdei. Astfel al 2-lea ciclu de tratament trebuie să coincidă cu această creştere de ADN in blaştii leucemici (celulele blastice sunt stimulate de factori umorali proprii gazdei)

Studiile actuale susțin astfel că aplicarea acestui model de inducere a remisiunii impus din primul ciclu de reducere a blaştilor şi de ciclul al doilea” chimioterapia secvenţială", prelungesc perioada de remisiune.

Se mai ridică o intrebare: este mai bine a indica o inductie in 2 cicluri sau o terapie intensiv cu doze mari, eventual completată cu medicamente de etapa a doua de tip etoposide vepeside?

Consolidarea .Remisiunea se obține după primul ciclu sau al doilea ciclu de tratament. Acesta in majoritatea cazurilor are o durată de 3 saptămani, când pacientului nu i se administrează nici un fel de medicament citotoxic, dacă numărul de blasti este mai mic de 10%. La majoritatea bolnavilor după primul ciclu remisiunea este incompletă (prezența de blaşti în sângele periferic şi măduvă > 10%) si se consolideaza cu Purinethol (p.c.) şi/sau Methotrexat.

Al treilea grup de bolnavi, este cel la care, in perioada de consolidare, se administrează 6-thioguanină şi doze mici de citosin-arabinosidă..

In programul de consolidare a remisiunii leucemiilor acute limfoblastice trebuie să avem în vedere şi posibilitatea transplantului medular de tip alogenic sau autolog.

Menţinerea remisiunii complete, perioadă fără semne de boală, fără blaşti in sângele periferic, măduvă, fără aspectul de celule blastice reziduale trebuie controlate, prin metode de biologie celulară de tip PCR (polymerase chain reaction).

Mentinerea remisiunii complete are in general trei modele terapeutice: nici un fel de tratament citotoxic:(2) administrarea de 6 - thioguanină şi citozinarabinozidă timp de 2 ani (3) cure alternative de citozin-arabinozidă, daunorubicină, 6-thioguanină,ciclofosfamidă-pentru 3 ani 4)/citozin-

arabinozidă, 6-thioguanină, vincristin, Prednison, pentru 2 ani. Obligatoriu citozin-arabirozidă, 6-thioguanine + CHOP

In tratamentul leucemiilor acute mieloblastice există şi scheme de tratament de scurtă perioadă, de intensificare a consolidării remisiunii, obținute cu primele 6-8 cicluri convenţionale.Aceasta cuprinde doze mari de citosin-arabinozică 1-3 g/m2 singur, sau in combinație cu antraciclina, Amsacrine, sau L-asparaginază. Această intensificare se aplică în 1 sau 3 cicluri şi poate fi foarte supresivă medular.

Rezultatele acestor posibilități de tratament specific, citotoxic pentru celula blastică, sunt variabile în funcție de celula blastică (tipul morfologic de leucemie…

4 pagini lipsa din carte

Deficienta imunităţii umorale şi neutropenia severa sunt prezente în stadiile tardive de evoluție a bolii şi ar putea cauza pneumonia cu pneumococ, meningita bacteriană și alte infectii severe. Deficienta in imunitatea mediată celular creşte susceptibilitatea la infectii cu Mycobacterium tuberculosis, cu anumiți fungi (candida, cryptococcus) şi virusuri - herpes zoster, herpes simplex. Alte aspecte clinice mai putin comune sunt: infiltrarea amigdalelor, a glandelor lacrimare şi salivare (sindromul Mikulicz) cu un facies caracteristic.

Sângele periferic și măduva osoasă

Aspectul esenţial din sângele periferic este o creştere a numărului de limfocite, care poate varia de la 3,5 x 1013500 /mm) până la valori de 300000 /mm). Obişnuit, la prima hemograma numărul de limfocite este de 15 x 10% (15 000/mm).

Majoritatea celulelor maligne au aspectul de limfocite mici, mature. Caracteristică este prezenţa de numeroase umbre nucleare acestea rezultand din distrugerea limfocitelor maligne in timpul preparării frotiurilor, ca urmare a unei fragilităţi mecanice crescute.

Chiar dacă la debut numărul de leucocite cu limfocitoză absolută depăşeşte cu puțin valorile normale, uneori 10—15 x 10 la a 9 (10000-15000 /mm3) diagnosticul de LLC poate fi stabilit prin demonstrarea proliferării monoclonale a limfocitelor maligne, deoarece acestea prezintă pe suprafata lor Ig cu lanturi usoare de un singur tip fie kappa fie lambda

Anemia poate fi normocromă, normocitară. Trombocitopenia şi neutropenia sunt prezente ca urmare a infiltraţiei medulare. Obişnuit aceste aspecte hematologe apar în stadiile tardive de evoluție a bolii. La un procent de 10% din bolnavi testul Coombs direct este pozitiv.

In aceste situatii, bolnavii au o anemie hemolitică severă cu icter, reticulocitoză și sferocite pe frotiu. De asemenea, o parte din bolnavii cu LLC au purpură trombocitopenică autoimună.

La electroforeza proteinelor serice, se va descrie o creştere a fractiunii gama.Imunograma va fi normală la 50 din pacientii cu nivele mici de IgG, IgA şi IgM.O altă valoare serică uşor de determinat este acidul uric, care, la un procent de 50% din pacienţi, este peste 6 mg%la bărbați si peste 5 mg% la femei. Valorile acidului uric la prima determinare poate atinge 10 mg% la un procent de 10% din bolnavii cu leucemie LLC şi corespunde turnover-ului rapid al unei mase mari de celule tumorale.

Dacă se face controlul prin puncţie medulară, pe frotiuri se va descrie hiperceluiaritate cu grade variate de infiltraţie, în special cu limfocite mici (poate fi prezent şi un procent de limfocite mari). Tesutul hematopoietic normal este redus

Evoluția modificărilor din LLC

Pe baza unui studiu efectuat pe 125 pacienti, Rai și colaboratorii (1975) au stabilit 5 stadii de evoluție a LLC. Trecerea de la un stadiu la altul este asociată cu o durată mai mică de supravieţuire a pacienților (vezi tabelul VII-27).

Tabelul VIII-20

Stadiul	Limfocitoza (sânge, măduvă osoasă)	Adenopatie	Hepato/-Splenomegalie	Anemie	Trombocitopenie	Durata de viaţa (ani)
0	*	-	-	-	-	10—20
I	+	*	-	-	-	8
II	+	+/-	*	-	-	6
III	+	+/-	+/-	*	-	1—2
IV	+	+/-	+/-	+/-	*	1—2

Astfel, în stadiul 0 exista numai limfocitoză (mai mult de 15 x 101 şi mai mult de 40% de limfocite în măduvă). Acest stadiu este asociat cu o perioadă lungă de supravieţuire de 10 20 ani din momentul confirmarii diagnosticului.Există un procent de bolnavi cu o supravieţuire de peste 20 ani.

In stadiul I de boală ganglionii devin palpabili şi durata netă de viață este de 8 ani. Stadiul II este caracterizat prin leucocitoză cu limfocitoză, cu prezenta obligatorie a splenomegaliei şi/sau hepatomegaliei. In contrast cu această splenomegalie, adenopatia superficială este minoră. Durata medie de viata este de 6 ani

Stadiul III este asociat cu limfocitoza si anemie (Hb mai mică de 11g/dl), iar stadiul IV cu limfocitoză şi trombopenie (mai puțin de 100 x 101 sau mai puțin de 100 000/mm). Durata medie de viață în stadiile III şi IV este de 12 ani .Cele mai frecvente cauze de deces în LLC sunt legate de infectiile secundare neutropeniei şi imunodeficienţei.

Rareori exitusul este cauzat de o transformare malignă. Aceasta poate fi de două tipuri:1) transformare prolimfocitară, în care celulele maligne din sânge şi măduvă au un aspect mai mult de prolimfocite decât de limfocite mici- 2) transformare blastică, sau sindromul Richter stare care debutează când într-un anumit organ există o creştere excesivă a tumorii. În sângele periferic apar limfocite mari cu nucleoli bine vizibili, tabloul sanguin fiind asemănător cu cel al leucemiei acute limfoblastice (LAL).

Tratament

Nu A fost stabilit cu certitudine dacă un tratament specific - de lungă durată inceput chiar din momentul stabilirii diagnosticului poate prelungi perioada de supravietuire. In consecință, tratamentul inițial este simptomatic şi işi propune să îmbunătăţească starea generală a pacientului.

În stadiul 0 nu se aplică nici un tratament, în stadiile I şi II se indica tratament dacă limfadenopatia sau splenomegalia sunt de dimensiuni mari şi creează un disconfort functional prin compresiune.

Dacă splenomegalia este însoțită de fenomene de hipersplenism sau pacientul prezintă anemie hemolitică autoimună, este necesară chimioterapie.

Cei mai mulți pacienţi răspund la tratamentul alchilant cu Clorambucil (Leukeran), pe cale orală. Acest medicament se administrează continuu sau intermitent 10,1-0,2 mg/kg/zi) in funcție de numărul de leucocite din sângele periferic şi de mărimea organelor.

Un alt medicament este ciclofosfamida (Endoxanul) care poate fi administrat per os, intramuscular sau intravenos, eficienţa lui fiind aceeaşi, indiferent de calea de administrare. Are ca efecte adverse alopecia, cistita hemoragică şi supresia medulară. Doza 50-100 mg/zi.

O indicație modernă in formele care nu răspund la Leukeran este medicaţia cu fluorarabina şi cladribina derivate de adenosină. Fluorarabina se administrează intravenos in doză de 25-30 mg/m) zilnic timp de 5 zile şi se repetă de 6 ori la interval de 34 săptămâni.

Dacă forma de leucemie limfatică este agresivă prin evolutia clinică şi hematologică se poate aplica o schemă tip ciclofosfamid, vincristin, Prednison ciclofosfamidă, vincristin, Doxorubicina, Prednison (CHOP)

Prednisolonul cauzează o reducere rapidă a masei tumorale, dar nu poate fi administrat pentru perioade lungi de timp, deoarece creşte riscul infecţiilor la pacienţii deja imunodepresați.

In general, LLC este o afectiune a oamenilor de peste 40-50 ani. Aceştia pot prezenta și alte boli, ca diabetul zaharat, hipertensiunea arterială esenţială, Osteoporoza postmenopauza, boli pe care corticoterapia le poate influența în sens negativ, putand constitui o cauză de decese inaintea agravării bolii de bază

Radioterapia locala este indicată într-un număr mic de cazuri, când există mase tumorale care comprimă organele vecine şi compromit functiile vitale (de exemplu adenopatia mediastinala).

in cazul splenomegaliei gigante asociată cu tabloul de hipersplenism şi influentata de chimioterapie este indicat iradierea splinei, eventual splenectomia.

Infecțiile sunt o complicație pe care trebuie să o avem, mereu in vedere la aceşti bolnavi. Acestea trebuie sancționate riguros cu antibiotice si antimicotice. La pacientii care prezintă infecţii recurente se poate indica administrarea regulata de gamaglobuline pe cale intravenoasă.

Schema de tratament a bolnavilor cu LLC trebuie, obligatoriu să ia în considerare hiperuricemia; în acest scop se prescrie Milurit (allopurinol). Datorită consumului excesiv de vitamina B,, și acid folic in hemolizele intercurente, este necesară administrarea terapeutică a acestor biocatalizatori.

Permanent la aceşti pacienti se indică anabolizante care stimulează hematopoeza. Pacienţii cu LLC in stadii mai puțin agresive se pot îngriji la domiciliu,

LEUCEMIA CU CELULA „PAROASA" (Hairy-cell leukemia)

Este o formă de leucemie cronică, descrisa pentru prima dată in 1958, de Bouroncle şi colaboratorii săi. Apare de obicei la pacientii peste, 40 ani, cu,preponderenţă pentru sexul masculin.

Boala se caracterizează prin pancitopenie, splenomegalie şi un aspect morfologic tipic al celulelor maligne din sânge şi măduvă. Se consideră că celula originară a acestei neoplazii este limfocitul B, care adesea produce o Ig monoclonala. Totuşi, au fost descrise unele variante ale bolii asociate cu celula T.

Etiologia este necunoscută. A fost comunicat un singur caz leucemie cu celulă „paroasa“ de tip T, la care s-a depistat virusul HTLV-1. Pacienţii prezintă simptome datorate splenomegaliei, infectii sau fenomene de vasculită. Mai mult de 75% din bolnavi au examenul fizic o splină palpabilă, care adeseori este masiva. Limfadenopatia este rară, iar hepatomegalia este neobişnuită la momentul debutului. În 30% din cazuri, se asociază manifestări de vasculită: eritem nodos, noduli cutanaţi şi chiar afectare viscerală similară poliartritei nodoase.

In momentul stabilirii diagnosticului, pancitopenia este prezentă. Numărul de Leucocite este normal sau scăzut, iar în sângele periferic sunt observate celulele „păroase". Aceste celule au un diametru de 15-20 μ, o citoplasma cu aspect spumos şi un nucleu situat excentric.

Pe frotiu se observă prelungirile citoplasmatice caracteristice care sunt mai bine evidențiate la microscopul cu contrast de fază. Aceste celule sunt pozitive pentru fosfataza acidă tartrat-rezistentă, care este o coloratie citochimică a izoenzimei 5 a fosfatazei acide.

Punctia măduvei osoase este de cele mai multe ori neconcludentă datorită fibrozei reticulinice. La biopsia măduvei se constată inlocuirea arhitecturii normale prin celulele mononucleare care păstrează spații intre ele. Examenul microscopic al splinei este caracteristic; acesta descrie infiltraţia cu mononucleare a pulpei roşii.

Evolutia bolii este variabilă. Unii pacienţi au o durată mică de supravieţuire, cauza majoră a decesului fiind infectiile. Alti bolnavi prezintă doar o citopenie discretă, care nu necesită tratament imediat, numai o urmărire atentă pentru depistarea infecţiilor

Cele mai obişnuite infecţii sunt reprezentate de: pneumonia cu Legionella (tratată cu doze mari de eritromicină). toxoplasmoza, tuberculoza şi infecţia cu micobacterii atipice, nocardioza, infecțiile cu germeni piogeni. Tratamentul specific este indicat la cei cu citopenie severă, antecedente infectioase, splenomegalie masivă sau cu evolutie rapid progresivă a bolii.

Splenectomia a fost considerată principala indicatie terapeutică; totuşi rolul acesteia la pacienţii cu splina mică este nesigur. Introducerea alfa-interferonului în tratamentul leucemiei cu celule păroase aduce beneficii majore la 70% din pacienti. Remisiunile complete sunt foarte rare, dar tratamentul recăderilor are adeseori succes.

Indicația cu interferon a intrat in schemele uzuale de tratament. Indicația este de aplicare subcutanată a 300 00 u x 4 ori pe săptămână, apoi 6-8 luni în doză de 3 ori pe săptămână până la reducerea splinei, a pancitopeniei şi dispariţia celulei „păroase“.

Pentostatinul (2'-deoxicoformicin). Pentostatinul este un medicament experimental foarte activ în această formă de leucemie, care induce frecvent remisiuni complete. Corticoterapia este potential periculoasă datorită riscului de infecții aceasta poate fi folosită uneori în cure scurte, pentru tratamentul manifestării de tipul vasculitei.

Chimioterapia cu agenti alchilanti este contraindicată datorită rezervelor medulare reduse. Prognosticul acestei afecţiuni este variabil. Mai puțin de 50% din bolnavi depăşesc doi ani de supravieţuire. Recent s-a constatat o imbunătăţire a prognosticului datorită tratamentului cu alfa interferon şi Pentostatin.

LEUCEMIA PROLIMFOCITARĂ CU CELULE T

Tabloul clinic şi hematologic este cel al unei leucemii limfatice cronice cu celulă matură T. Limfocitele conţin granulaţii, cu dispoziție paranucleară, colorate pozitiv cu fosfatază acidă şi esterază.

Clinic: Acest tip de leucemie mai are o particularitate histologică, limfocitele maligne se dispun in special in zona paracorticală a ganglionului (zona paracorticala Türk), cu respectarea in mare a foliculilor limfoizi.

imunofenotipare: celulele sunt CD7, ca element caracteristic; + CD2, CD, CD5, mai rar 65% CD4, 21% CD8, CD25:

genetica: iuv (cr. 14); trisomia 8.

LEUCEMIA CU LIMFOCITE CU GRANULATII MARI T8+

Corespunde unei leucemii limfatice cu limfocit adult supresor T8+

Pe frotiul de sânge periferic se descriu limfocite cu nuclee ovale, cu cromatină moderat condensată, nucleoli, citoplasmă abundentă albastră-palid, cu granulații.

Se vor colora cu fosfataza acidă, dar colorația pentru esteraza, este negativă.

Imunofenotiparea ajută la diagnostic prin procent absolut cu limfocit T8.

BOLILE MIELOPROLIFERATIVE CRONICE

Definitie

Bolile mieloproliferative cronice constituie un grup de afectiuni caracterizate prin proliferarea unei clone neoplazice de malignitate joasă, derivată dintr-o celulă stem hematopoietică pluripotentă sau multipotenta.

Conceptul de boli mieloproliferative a fost introdus de William Dameshek in 1951.

In acest grup de boli sunt incluse 4 afecțiuni: policitemia vera, trombocitemia esenţială, mielofibroza idiopatică, leucemia granulocitară cronică. Unii autori exclud leucemia granulocitară cronică din categoria bolilor mieloproliferative, dar motivele nu sunt bine intemeiate, deoarece faza cronică a acestei boli nu diferă fundamental de celelalte 3 condiţii mentionate.

În bolile mieloproliferative cronice, cu excepţia mielofibrozei idiopatice, clona anormală generează concentraţii crescute ale unuia sau mai multor tipuri celulare din sângele periferic: eritrocite, trombocite, granulocite şi monocite.

O parte din pacienţii cu policitemia vera, trombocitemie esențială sau leucemie granulocitară cronică dezvoltă mielofibroza extensivă, în cursul evolutiei naturale a bolii. Fibroblaştii responsabili de producerea mielofibrozei în aceste condiţii, la fel ca şi cei din mielofibroza idiopatică, nu aparțin clonei neoplazice; fibroza ar rezulta prin acțiunea unor factori stimulatori ai fibroblaştilor eliberaţi de megacariocitele anormale (fibroza reactiva).

Alta caracteristică comună a bolilor mieloproliferative cronice se referă la perioada terminală a bolii, când se produce conversia intr-o formă de leucemie acuta.

În bolile mieloproliferative, numai în leucemia granulocitară cronică există un marker clonal. Patogeneza este necunoscută şi diagnosticul depinde de criterii clinice.

Tratamentul acestor afecțiuni are un scop curativ; se urmăreşte ameliorarea simptomelor şi reducerea riscului de complicații severe. Totuşi, unii pacienti cu leucemie granulocitară cronică pot fi vindecaţi prin transplant medular.

Sindroamele mielodisplazice sunt asemănătoare cu bolile mieloproliferative cronice, deoarece și acestea rezulta prin proliferarea unei clone anormale de malignitate joasă, derivata dintr-o celula

stem hematopoietică. Deosebirea dintre cele două tipuri de boli se bazează pe descoperirea unei tuiburări de maturație a celulelor sanguine (displazice) in cazul sindroamelor miclodisplazice şi absenţa ei in bolile mieloproliferative cronice.

POLICITEMIA VERA

Policitemia vera este o boală mieloproliferativă cronică, in care există o expansiune lentă a clonei celulare neoplazice, derivată dintr-o celulă stem hematopoietică multivalentă. Această clonă neoplazică generează creşterea numărului de eritrocite din sângele periferic şi, deseori, a numărului de neutrofile și trombocite. Celule progenitoare eritroide, derivate din celula stem multipotentă proliferează şi se diferențiază in vitro, în absenţa eritropoietinei (autonomie). Deşi formarea coloniilor eritroide este independentă de eritropoietină şi este un aspect caracteristic pentru policitemia vera, el nu este specific pentru boală, intrucât nu toți progenitorii eritroizi sunt independenti de eritropoietină.

Natura cională a populaţiei de celule anormale a fost demonstrată la femeile cu policitemia vera care sunt heterozigote pentru glucozo-6-fosfatdehidrogenază, la care s-a constat că toate eritrocitele, granulocitele şi trombocitele conțin un singur tip de izoenzimă, spre deosebire de celule afectate de boală (spre exemplu fibroblaştii din piele) care conțin ambele tipuri (A şi B).

PATOGENIE

Policitemia vera apare dintr-o celulă stem pluripotentă anormala, sau dintr-o celulă precursoare eritroidă, internațional denumită CFU-E.

Celula stem pluripotentă anormală a dobândit defecte multiple genetice, care-i conferă posibilitatea să fie autonomă, prin anumite mecanisme de proliferare.

Celula devine ceea ce unanim numim celulă neoplazică.

Care sunt defectele genetice ale celulei stem multipotentă în policitemia vera?

Primul defect dovedit astăzi, lipsa receptorului Mlp, receptorul trombopoetinului la suprafața celulelor stem precursoare, suprafața megacariocitului și a trombocitelor

Receptorul Mip este astfel denumit fiind aferent „murine myeloproliferative leukemia virus". Astfel, proliferarea celulelor stem, a megacariocitelor este independenta de trombopoetin, situaţie asemănătoare cu independenţa celulelor eritroblastice de erythropoietin. In lipsa acestui receptor Mlp, trombopoetinul nu mai poate inhiba apoptoza - trombopoetina nu poate activa sistemul de semnalizare Janus (JAK)- şi astfel linia celulară cu defect de Mlp, independent de trombopoetin, are o viață lungă, proliferează autonom, dar îşi reține capacitatea de a se diferentia in celule mature sanguine.

Al doilea defect genetic dobândit in policitemia vera este deprimarea anormală a genei Bcl-XL care conferă, de asemenea, posibilitatea unei durate de viață mai lungă a celulelor stem cu defect şi a precursorilor eritroblastici.

Gena Bcl face parte din familia de gene Bcl-2. Aceste gene fac parte din sistemui larg de control care determină viaţa şi moartea oricărei celule din momentul apariţiei embrionului. Ele cedează apoptoza (moartea programată a célulei) sau inhibă apoptoza (prelungeşte durata de viață). Se găsesc la nivel de mitocondrie. Din această familie largă, Bcl-2, gena Bcl-x inhibă în

mod normal apoptoza. S-au descoperit (Silva şi colab.) nivelele crescute de Bcl-X, in precursori eritroblastici independenţi de eritropoietina, la bolnavii cu policitemia vera.

Acesta ar fi un alt defect care conferă durată lungă de viață a seriei eritroblastice anormale.

Al treilea defect genetic dobândit la nivel de celulă stem pluripotentă şi precursori eritroblastici este hipersensibilitatea la factorii de creştere, interleukina-3, factorul stimulator de creştere a coloniilor de granulocite şi monocite (G.M. - CSF) şi a factorului tip I, asemănător cu insulina.

Al patrulea aspect neoplazic este autonomia, independența de eritropoietin, a liniilor celulare tinere din policitemia vera şi anume a progenitorilor eritroblastici pe care astăzi unanim îi denumim celule formatoare de unități-eritroblastice (CFU-E).

Astfel, policitemia vera se aseamana cu leucemia limfatică cronică şi limfomul folicular, boli în care limfocitele mature se acumulează datorită anomaliilor din sistemul Bcl-2. Datorită acestor anomalii, există o instabilitate in genomul celulei, care in final scapă de controalele fiziologice. Policitemia vera este un microcosm al acestor evenimente" (Robert S. Schwartz, 1998).

Multe din simptomele şi complicatiile bolii sunt atribuite numărului mare de eritrocite, care determină expansiunea volumului plasmatic şi creşterea vascozităţii sângelui. Vascozitatea plasmatică crescută conduce la scăderea fluxului sanguin, cu hipoxia tisulară consecutivă.

ASPECTELE CLINICE

La descoperirea clinică a bolii, vârsta pacienţilor este cuprinsă intre 40 şi 70 de ani. În stadiile iniţiale, bolnavii pot fi asimptomatici, iar descoperirea unei valori crescute a hemoglobinei este întâmplătoare.

Debutul acestei afecţiuni este insidios, cu apariția progresivă a următoarelor simptome: cefalee, ameteli, tinitus, astenie, insomnie, tulburări vizuale şi de echilibru, prurit generalizat, dispnee de efort, crize anginoase și claudicație internitentă. Unii pacienţi pot prezenta un debut acut asociat cu un episod trombotic sau hemoragic.

Trombozele venoase şi tromboflebitele superficiale sunt mai frecvente decât trombozele arteriale. Pot fi afectate venele profunde ale membrelor, precum şi cele din teritoriul mezenteric, splenic, portal sau hepatic. Trombozele arteriale pot determina infarcte cardiace şi cerebrale sau gangrene periferice. S-a constat că incidenţa ocluziei vasculare se corelează direct cu valoarea hematocritului. Astfel, pacienții cu un hematocrit mai mare de 60% prezintă anual episoade ocluzive. De asemenea, riscul ocluziei vasculare este mai mare la pacienții cu număr crescut de trombocite, decât la cei cu valori normale.

În uncle cazuri, se asociază ulcere peptice care pot prezenta complicaţii hemoragice, totuşi nu s-a stabilit cu certitudine dacă incidenţa ulceratiilor peptice este mai mare la pacienţii cu policitemie vera, în comparație cu populația normală.
In 10% din cazuri, policitemia vera poate debuta cu fenomene artritice gutoase, datorită hiperuricemiei secundare turnover-ului celular crescut.

Apariția manifestărilor hemoragice constituie un paradox, deoarece numărul, trombocitelor este crescut. Cauza sângerărilor nu a fost stabilită cu certitudinea ca s-ar datora unor defecte calitative ale trombocitelor (răspuns scăzut al trombocitelor la agenți agreganți, cum ar fi ADP-ul). Sindroamele hemoragipare includ: echimoze, epistaxis, hemoragii digestive superioare, sângerări severe intra- şi postoperatorii.

La examenul obiectiv se remarcă un facies pletoric, hiperemie conjunctivală, semne de grataj, ca rezultat al pruritului după baia caldă. Splenomegalia, de obicei moderată, este prezentă la debut in 70% din cazuri. Hepatomegalia se constată la jumătate din pacienti. Splenomegalia necesită unele mențiuni speciale. Dacă la prima examinare, splina este percutabilă şi palpabila la 3-5cm sub rebord, după un număr mare de flebotomii, ea se reduce progresiv . Odată cu evoluţia bolii, splenomegalia nu mai răspunde atât de prompt la flebotomie; explicația constă în apariţia focarelor de eritropoieza locală consecutive metaplaziei mieloide.

DATELE DE LABORATOR

Concentrația hemoglobinei, numărul de eritrocite și hematocritul sunt crescute.

Astfel, hemoglobina prezintă valori de 18–24 g/dl, iar hematocritul depăşeşte 47% la femei şi 52% la bărbați. Volumul total al eritrocitelor este crescut şi confirmă diagnosticul de policitemie vera.

Volumul plasmatic total (măsurat prin albumina marcată cu 1) este, de obicei normal sau scăzut, in timp ce volumul total al sângelui este crescut. Hematiile sunt monocrome şi normocitare, totuşi când se asociază o carenţă absolută sau relativă de fier, aspectul lor devine hipocrom şi microcitar. Deficiența absolută de fier poate fi determinată de hemoragiile gastro-intestinale recurente, precum şi de flebotomiile repetate. Deficienţa relativă de fier poate rezulta din incapacitatea depozitelor normale din organism de a asigura necesitățile crescute de fier, secundare sideremiei a capacităţii de saturare a transferinci, la intervale regulate de timp (6--12 luni).

Tabloul hematologic mai include:

-leucocitoză moderată (până la 30 000/mm') în 75% din cazuri, fără formulă de viaţă, dar cu bazofilie medie (1-3%). Bazofilia constituie un marker pentru sindromul mieloproliferativ; fosfataza alcalină leucocitară normală sau crescută;

- trombocitoza (până la 1000000 /mm') in 2/3 din cazuri:

-creşterea nivelului seric al vitamine B 2 (peste 900 pg/ml), datorită creşterii transcobalaminei I; creşterea indicelui de viscozitate sanguină;

-scăderea nivelului eritropoietinei plasmatice şi urinare;

-hiperuricemie (peste 10-11 mg%) in 70% din cazuri.

La prima examinare a pacientului, când diagnosticul de policitemie vera este cert, nu este necesară examinarea măduvei osoase, deoarece nu furnizeuză informatii suplimentare. Totuşi, dacă se efectuează puncţia sternală, frotiurile de măduvă osoasă vor indica hiperplazia tuturor seriilor hematopoietice, predominant a liniei eritrocitare, cu o reducere a tesutului grăsos.

DIAGNOSTICUL DIFERENTIAL

Criterii de diagnostic in policitemia vera

Criterii majore

1) Volumul masei eritrocitare >32 ml/kilocorp la femei şi >36 ml/kilocorp la bărbaţi.
2) Saturaţia cu oxigen a sângelui arterial ≥92%.
3) Splenomegalie.

Criterii minore

1) Trombocitoza: >400 × 10^9/l (400 000/mm^3).
2) Leucocitoza: >30 × 10^9/l (30 000/mm^3).
3) Fosfataza alcalină leucocitară >100.
4) Nivelul seric al vitaminei B_{12} >900 pg/ml.

* Se acceptă criteriul de recunoaştere a *policitemiei vera*:
— nivelul scăzut de eritropoietină <30 U/ml;
— absenţa depozitelor de fier;
— hipercelularitatea măduvei cu hiperplazia seriei megacariocitare.

Diagnosticul de policitemie vera se pune când există trei criterii majore sau două criterii majore şi două criterii minore.

Studiile citogenetice au demonstrat anomalii cromozomiale în 50% din cazuri trisomia 8 şi 9, deleţia braţului lung al cromozomului 7 (79).

Alte cauze de policitemie (cauzele policitemici secundare sunt prezentate in capitolul 3) trebuie excluse prin investigaţii specifice (spre exemplu, pielografia intravenoasă pentru excluderea leziunilor renale). Când volumul crescut al masei eritrocitare nu este asociat cu celelalte criterii de diagnostic menționate, iar policitemia secundară a fost exclusa, entitatea este denumită eritrocitoză idiopatică. In această ultimă situație, care pare să fie o boală neoplazică, eritropoietina serică şi urinară este crescută, iar o parte din pacienţi pot dezvolta în timp tabloul complet al policitemiei vera...

EVOLUTIE ŞI PROGNOSTIC

Evoluţia bolii depinde de valoare hematocritului şi de vârsta pacientului; de multe ori este greu de apreciat, datorită complicaţiilor tromboembolice sau a sângerărilor spontane.

Aproximativ 1/3 din pacienţi prezintă o evoluţie benignă, care permite desfăşurarea unei vieti normale. Aceşti bolnavi sunt trataţi şi monitorizați în funcție de valoarea hematocritului.

Un procent din pacienţi are o supravieţuire scurtă, decesul fiind legat de complicațiile vasculare ale bolii sau independent de afecţiunea de bază. Sunt in general, pacienti peste 55 de ani, care pot prezenta aritmii cardiace letale.

Tabloul clinico-patologic al mielofibrozei se dezvoltă în 30% din cazuri. Hepato- splenomegalia este progresivă, iar măduva osoasă este dislocată treptat de fibroblasti.

Conversia in leucemie acută se produce la 10% din bolnavi. Incidenta leucemiei acute terminale este mai mare la pacienţii tratati cu Busulfan sau fosfor radioactiv, decât la cei cu flebotomii repetate. În unele cazuri, se dezvoltă al doilea neoplasm: limfomul nehodgkinian sau mielomul multiplu.

In general, supravieţuirea din momentul stabilirii diagnosticului este de 18 luni la pacienţii netratați și de 8-16 ani la bolnavii tratați în mod corespunzător,

Cauzele de deces sunt reprezentate de:

1) ruptura spontană de ficat sau splină;

2) insuficienta renală cronică secundară nefropatiei urice;

3) hemoragie digestivă superioară masivă:

4) accidente tromboembolice cerebrale irecuperabile şi exitus prin comă neurologică;

5) deces prin mielom multiplu, limfom malign, leucemie acută monocitară, eritremie acută;

6) accidente legate de vârsta înaintată: infarct miocardic, diabet.

TRATAMENT

Obiectivul principal al tratamentului în policitemia vera este reducerea şi menținerea hematocritului sub 50% (de preferat sub 45%), pentru prevenirea accidentelor trombotice.

Tratamentul de elecție, care poate efectuat în urgență, chiar şi la dispensare, este flebotomia. Sângerările sunt de 300—400 ml la o flebotomie, repetate la un interval de zile, până la reducerea hematocritului şi a hemoglobinei. De obicei, o cură cuprinde 5-7 flebotomii. Numărul de sângerări necesare este corelat direct cu turnover-ul celulelor anormale. La un interval regulat de timp este obligatorie determinarea sideremici - şi suplimentarea, la nevoie, cu preparate orale de fier, pe o perioadă de 6 săptămâni.

După efectuarea flebotomiei, i se perfuzează pacientului Dextran 40 sau 70, pentru a preveni instabilitatea vasculara asociată cu o reducere rapidă a volumului total de sânge.

Dacă necesarul de flebotomii este crescut la un interval mai mic de 2 luni sau dacă există o trombocitoză marcată se recurge la tratamentul cu fosfor radioactiv (P): 1,3-1,5 mCurie/doză. In decursul evoluţiei bolii, doza total administrată nu trebuie să depăşească 85 mCurie. Acest tratament prezintă un risc crescut de apariţie precoce a mielofibrozei şi de precipitare a mielomului multiplu, a leucemiei acute monocitare şi, foarte rar, a eritremiei pure.

Dacă turnover-ul celular este foarte rapid se recurge la chimioterapie. În funcție de valoarea hematocritului, se administrează 1-3 g/zi de hidroxiuree sau busulfan. Administrarea de busulfan impune o monitorizare atentă a pacientului, deoarece medicamentul are un efect citotoxic marcat pe măduva osoasă şi induce o aplazie medulară ireversibilă.

De asemenea, există riscul unei fibroze pulmonare secundare tratamentului.

Hydrea (hidroxiureea) este un mielosupresiv, dar nu este un agent alchilant. El scade sinteza de ADN. Este ideal pentru bolnavii cu policitemia vera la care calea de aport venoasa este dificilă,

dacă ritmul de reinnoire este rapid şi sunt necesare multe flebotomii,dacă există anamnestic tromboză şi dacă pacientul este vârstnic. Rezultatele sunt bune, reducerea hematocritului apare la 80% din pacienţi, la 12 luni după începerea tratamentului.

Hidroxiureea poate fi indicată ca tratament de intretinere 1 tb/500 mg de 3 ori pe săptămână.

Hidroxiureea (Hydrea) nu este mutagenică. Astfel, s-au evaluat pacienti care au urmat acest tratament pentru o perioadă de 4 ani şi nu exista indicii de creştere a riscului de transformare in leucemie acută.

Interferon (1 Recombinant interferon-a) este astăzi indicat, in formele refractare la tratamentele arata-le. Există o fază fiziopatologică pentru această indicaţie.

Alte metode terapeutice mai puțin folosite, Busulfanui (Myleranul), dar trebuie Clorambucilul (Leukeranul) în doză de 4-10 mg sau 0,1-0,2 mg/kilocorp/zi.

In schema de tratament a policitemiei vera se include obligatoriu un inhibitor al sintezei de acid uric: allopurinol, milurit (Milurit). Pruritul din această afecţiune poate fi calmat prin administrarea de ciproheptadină (Peritol) in doze de 12-18 mg/zi şi/sau cimclidină, 900 mg/zi.

LEUCEMIA GRANULOCITARĂ CRONICĂ (L.G.CR.),

Leucemia granulocitară cronică este o boală mieloproliferativă, cronică, clonală, care apare prin transformare neoplazică la nivelul celulei stem multipotente.
Este caracierizată printr-o productie crescută a granulocitelor şi prin prezenta în procent de 95% a unei anomalii cromozomiale Phi.

Cromozomul Phi este o anomalie care rezultă din translocatie de material genetic, gena BCR din cromozomul 22 translocatie pe cromozomul 9 în vecinătatea-genei ABL (97; 22) (John Goodman, 1997).

Gena hibridă ABL/BCR, este, în mod obişnuit, numită cromozomul Philadelphia 1 (Ph 1) pentru că este prima anomalie cromozomială descrisă într-o boală neoplazică (in 1960) și Philadelphia de la oraşul unde lucra grupul G condus de Nowell P.C. şi Hungerford D.A. Această genă, ABL-BCR, generează or p2, o protein-tirozin-kinază, care este implicată în variate puncte de transmitere ale semnalului de transducție. Noţiune nouă este aceea că proteina (p") biochează apoptoza celulelor stem hematopoietice şi a precursorilor ei. Prezentă în citoplasmă, proteina 210 ar putea intercepta funcţia normală a integrinului, ar reduce adeziunea celulelor progenitoare ,elementele stromale şi, ca rezultat, celula stem cu fenotip leucemic „scapă" de reglarea inhibitorie hormonală.

ISTORIC

În 1845 Craigie, Bennet şi Virchow au recunoscut boala şi au prezentat-o ca o suferință cu splenomegalie si supurație cu sânge. În 1960 Nowell şi Hungerford, au descris prezenta unei anomalii cromozomiale, cromozomul 21, care are un bra scurt.

Ulterior, această identitate cromozomială a fost recunoscută ca fiind o greşeală, şi s-a identificat cromozomul 22 ca fiind cu un brat scurt la nivelul genei bcr (bcr=o scurtă secvență de ADN din cromozomul 22, denumită ,breakpoint cluster region').

In tabelul IX-2 este prezentată evoluția în timp a cunoştinţelor la nivel molecular în leucemia granulocitară cronică.

Anul	Descoperirea
1960	Descoperirea cromozomului Philadelphia (cromozomul 22 cu braţ scurt).
1973	Recunoaşterea translocaţiei t (9:22).
1984	Recunoaşterea regiunilor bcr pe cromozomul 22q („breakpoint cluster region").
1985	Descoperirea proteinei 210, cu activitate de tirozin-kinază.
1987	Demonstrarea cazurilor de leucemie granulocitară cronică Ph 1(-) negative.
1990	Realizarea unui model pe şoarece cu leucemie granulocitară cronică cu retrovirus care conţine gena umană bcr/abl.

Evoluţia modificărilor în leucemia granulocitară cronică

PATOGENIE

ARN mesager, rezultat din gena hibrid abl/bcr, produce proteina p210, care are capacitatea de auto-fosforilare a tuturor proteinelor la nivelul rezidului-tirozină şi, astfel, ele dobândesc o activitate de tirozin-kinaza.

Se cunoaste prin determinări repetate, că dimensiunea acestui ARN mesager (gena hibrid abl/bcr) este de 8,5 Kb; el rezultă din excizia tuturor intronilor din gena abl si a exonului Ib: la. Astfel, exonul II din gena abl sé va uni cu exoul b2 exonul şi exonul b3 din gena bcr. Acest ARN mesager poate fi detectat în toate celulele blastice de la bolnavii cu leucemie granulocitară cronică în faza cronică a bolii, dar si in majoritatea celulelor in perioada de transformare blastică a acestei boli.

Activitatea proteinei p210 este, sigur, un moment .crucial" al mecanismului prin care functia normala a celulei stem este perturbata.

Protooncogeneza umană abl are ca omolog oncogena virala care este normal situată pe cromozomul 9q34.Această oncogenă codifică o proteina 140 kd (p140) care este larg răspândită în celule umane normale şi care are o redusă activitate de tip protein-kinază. Gena abl umană conține mai mulți exoni. Cei situaţi pe genă în aval sunt desemnaţi ca exonii Ib şi la şi sunt situați la distanţă de exonul II care este denumit primul exon comun care, aşa cum am descris mai sus, fuzionează cu exonul 2 şi 3 din gena bcr. Studiile au mai descris şi prezența unui singur tip de izoenzimă de tip glocozo-fosfat-dehidrogenaza dehidrogenază (G6PD), fie tip A.fie tip B. în celule leucemice la femeile cu leucemie granulocitară cronică şi niciodată ambele forme de izoenzime. O, bună interpretare, ar fi aceea că translocatia cromozomiala Ph1 se observa, în primul moment, intr-o singură celulă stem hematopoietică, care are un singur tip de izoenzima de tip glucozo-fosfat-dehidrogenază, după care multiplicarea acestei celule stem anormale conduce la o proliferare necontrolată, dehomeostazia sistemului hematopoietic, a celulelor hematopoietice stem pluripotente, a celulelor stem mieloide și a precursorilor de tip mieloblaşti, eritroblaşti, megacaroblaşti şi monoblaşti.

Cunoştinţe actuale de patologie permit să identificăm următoarelor forme clinice de leucemic granulocitară cronică

Lg.cr. cu Ph(+) pozitiv;

L.g.cr. negativă, hematologic tipică;

L.g.cr. negativă, hematologic atipică;

L.g.cr. a pacienților tineri; Leucemia cronică limfocitară Ph(-) negativă;

Leucemia cronică cu neutroíile.

ASPECTE CLINICE

O proporție mare, (40%din bolnavi) nu au semne sau acuze de boală şi descoperă, printr-o hemograma de rutină la un control ca donator de sânge,pentru angajare ca salariat, pentru o operație minoră sau in alte circumstante, leucocitoză constantă obişnuit peste 20.000 leucocite/dl, cu formula leucocitară deviata pana la mieloblast şi bazofile in formula.

O altă categorie de bolnavi sunt asimptomatici in momentul diagnosticului.

Simptome comune sunt reprezentate de starea subfebrilă, anorexie, pierdere in greutate, transpiratii nocturne (datorită metabolismului crescut), oboseală psihică, sindrom depresiv, dispnee, palpitaţii (datorită anemiei), senzatie de disconfort in partea stanga a abdomenului (datorită unei splenomegalii importante), sângerări spontane (datorită modificărilor cantitative şi calitative ale trombocitelor).

Un număr mic de bolnavi pot prezenta la primul consult cefalee, ataxie, tulburari de echilibru si scaderea acuităţii auditive și într-un procent de 1% priapism. Aceştia au, de hipervascoztate indusă de numărul mare (500 000/dl) de leucocite.

Examenul fizic evidenţiază puține semne revelatoare pentru boala. Un procent de 10-20 din bolnavi nu au splină palpabilă la primul examen clinic, dar percuţia atentă și repetată descrie o matitate splenică mărită şi persistenta. O altă grupă de bolnavi pot avea o splină moderat mărită şi alţii, 1/3, o splină mare dureroasă, datorită unui infarct subcapsular recent. La aceştia se descrie durerea, iradiată în umărul stâng şi, la auscultație în flancul stâng, frecătură splenică.

Ficatul poate fi moderat mărit, dar este de consistenţă moale.

Reținem durerea sternului la percuţie „tipătul sternal, prezenta de echimoze la locul de minimă presiune (braţe, coapse, zona poplitee), artrita gutoasă si un examen oftalmologic, care descrie venele retiniene dilatate datorită leucostazei.

SÂNGELE PERIFERIC ŞI MĂDUVA OSOASA

De obicei, există o anemie normocroma, normocitară. Numărul de leucocite este între 50 x 10 la 9/1 (50 000/mm' şi '400 x 10°/l (400000 /mmy3) Numărul de trombocite este variabil - poate fi crescut in unele cazuri până la 80 x 10^9/l (800 000/mm'), dar poate fi si normal sau scăzut. În formula leucocitară este o caracteristică: predomină segmentele neutrofile, metamielocit si limfocite. Numărul de mieloblasti este relativ mic, raportat la numarul total de leucocite (10—12%). Caracteristică este creşterea numărului total de bazofile.

De asemenea, pot fi prezepte şi crescute eozinofilele şi monocitele, in formula leucocitară. Pe frotiul de sânge periferic pot fi descrise şi megacariocite adulte, dar de talie mai mică, anormale. Nivelul fosfatazei alcaline Leucocitare este mult scăzut sau absent (0-1) în 90% din cazuri. In serul acestor pacienți, atat concentrația de vitamine B cât şi capacitatea de legare a vitaminei este crescută, datorită producției de transcobalamine, proteina care transporta vitamina B si care este eliberata de granulocite si precursorii lor.

Măduva sternală este extrem de bogată celular. Examinarea nu este strict necesară pentru diagnostic, dar, în mod obişnuit, este indicată pentru cercetarea cromozomului Phl. Se descrie o hiperplazie à seriei granulocitare, eozinofile,granulocite bazofile, o creştere a megacariocitelor trombocitogene. In faza cronică, 15% In celulele nucleate sunt celule de tip limfoblasti. In măduvă uneori se dc scriu şi celule pseudo Gaucher.

Se indică punctia biopsie din creasta iliacă, se cercetează pe secţiuni măduva pentru reticulină printr-o coloraţie speciala argentafina; la debutul bolii, conţinutul in reticulină este normal, dar creşte odată cu evolutia boli.

EVOLUTIA BOLII ŞI FACTORII DE PROGNOSTIC

Durata medie de supravieţuire, in leucemia, granulocitară cronică de la diagnostic, cu un tratament chimioterapic obişnuit este de 3,5 ani, dar există şi date extreme de 1,5 ani până la 15 ani. S-au cercetat datele de prognostic pentru evolutia bolii în faza- cronică. Este unanim acceptat ca marimea splinei , in cm sub rebord , este corelata cu o durata de supravietuie, bolnavii cu splina mica sau numai palpabila in inspir, au o evolutie lunga si viceversa.

Numărul mare de: leucocite la debut, cu un procent crescut de blasti, trombopenia sau trombocitoza excesivă, un număr crescut de bazofile pot fi luate in calcul ca date pentru un prognostic rezervat cu o durată scurtă de evoluţie.

Citogenetic, recent, se cercetează pozitia de rupere a zonei M-ber şi se poate face o corelație cu durata fazei cronice.

TRATAMENTUL FAZEI CRONICE A LEUCEMIEI GRANULOCITARE CRONICE

Tratamentul urmăreşte reducerea numărului de leucocite la valori normale scaderea procentului de blaşti şi a bazofilelor.

Astăzi se decide ca prim-agent letrapeutic, tratamentul cu Hydrea (hidroxiureea).

Doza este decisă de numărul de leucocite."Acest citostatic este un inhibitor al reductazei ribonucleotidelor. Nu este toxic medular şi poate fi indicat o perioadă lunga. Efectele adverse care pot apare, la un număr de bolnavi sunt: greată ,scăderea ponderală. Pe frotiul de sânge periferic se remarcă o macrocitoză constantă, care se reduce prin administrarea de acid folic. Când apar aceste efecte adverse, se intrerupe administrarca de Hydrea şi se continuă cu un alt chimioterapic, Busulfanul(Myleranul), cu acţiune foarte bună. Tabletele de Hydrea au doza de 500 mg/tabletă şi se apreciază ca o doză de 4g (8 tb.) x 2 săptămâni, dacă numarul de leucocite este peste 100 000; 3g (6 tb.)x2 săptămâni: pentru un număr de leucocite de 75 000.

În general, tratamentul este individualizat de la bolnav la bolnav, neexistând o regulă absoluta in prescriptia medicamentului Hydrea

Busulfanul (Myleranul) a fost medicamentul ideal pentru o perioadă de 40 de ani (1953). Indicația lui ia în calcul efectele sale adverse hipoplazia medulară ireversibila, trombocitopenia severă, fibroza pulmonară,.pigmentaţia melanica a tegumentelor, amenoreea şi sterilitatea. Busulfanul (Myleranul) lucrează prin cumul, de aceea scăderea numărului de leúcocite, blaşti şi a splinei începe după 10-14 zile, maximul de efect fiind evident la 14 zile. Medicamentul are pe tableta de adult 2 mg. Prima doză, în medie, este în funcție de numărul de leucocite, dar, in general, ea nu depăşeşte doza de 12mg 16 tb./zi), dat fiind efectele mielotoxice ireversibile. Se poate continua după reducerea splinei şi a numarului de leucocite cu 1-2 tb./zi până la normalizarea hemogramei şi reducerea cat mai mult a splenomegaliei .

Dacă numărul de leucocite este mare, 500.000/dl, și există semnele sindromului de hipervâscozitate (examenul fundului de ochi este obligatoriu), se indică leucoforeza şi doze mari de Hydrea.

Tratamentul cu interferon (interferon-a recombinat) a intrat în triada terapeutică a leucemiei granulocitare cronice. Administrarea se face zilnic, 3000000 U subcutan timp de 2-3 săptămâni

până la obţinerea unei schiţe de remisiune după care se continuă cu doza de întreţinere de 3 000 000 u(interferona-alfa recombinat) de 3 ori pe săptămână. Se indică o perioadă de 12 luni încercându-se conversia citogenetică, disparitia anomaliei cromozomiale Phi. Efectele adverse cefalee, stare subfebrilă (37,5-38°), oboseală, greaţă, anorexie mialgii, impun administrarea precedată de antitermic; Paracetamol, în cursul dimineții. Tratamentul cu interferon poate fi continuat ani de zile: O altă opțiune terapeutică este transplantul medular allogenic sau autolog. Se poate indica la bolnavi până la vârsta de 60 de ani, care au răspuns la tratamentul cu Hydrea și interferon.

Indiferent de medicația folosită in leucemia granulocitară cronică, aceasta trebuie suplimentată cu un agent uricozuric, prescris zilnic, de tip Millurit (allopurinol) și hiperhidratare.

Alte metode terapeutice indicate în faza cronica-leucemiei "granulocitare cronice, iradierea splinei cu doze modeste, se aplică pentru o splină tumorală, dureroasă, dar iradierea se face cu precauţie şi cu doze mici.

TRANSFORMAREA BLASTICĂ A LEUČEMIEI GRANULOCITÁRE CRONICE (FAZA ACCELERATĂ A BOLII)

Toţi bolnavii cu leucemie granulocitară cronia, după o perioada de evoluţie variabilă dezvoltă o transformare blastică, metamorfoză blastică, „faza accelerată a bolii".

Criteriile de recunoaştere a acestei faze accelerate a leucemiei granulocitare cronice sunt următoarele:

- procentul de mieloblaşti şi promielocite;
- anemie <10 g/dl;
- trombopenie: 80.000/dl;
- trombocitoză persistentă;
- bazofilie peste 20% in sângele periferic;
- hepato-splenomegalie care nu răspunde la tratamentul cu Hydrea sau Busulfan.

Semne generale:

-febră 37,5-38° timp de 5 zile (Fără origine infectioasă);

- pierdere ponderală (0% din greutatea initial;

- transpirații profuze, dureri osoase.

Astăzi se mai completează aceste semne comune cu determinarea mielofibrozei, apariția de cloroame sau modificări citogenetice aditionale.

Tratamentul fazei accelerate", care în medie durează 6 luni-1.6 ani, este cu doze moderate de citozin-arabinozidă (Cytosar, Alexan), Hydrea şi interferon. Dacă splina este mare şi dureroasă, se indică iradierea şi, în cazuri de urgenţă când este iminentă ruptura spontană, splenectomia. Se mai poate converti din acest moment al evoluţiei bolii şi forma de tratament, să indicăm un tratament specific pentru leucemia acută mieloblastică: citozin-arabinozida (Cytosan). Daunorubicina, 6 tioguanina (Lanvis). Un procent major din bolnavi raspund la această indicatie terapeutică.

Cu toate eforturile terapeutice, bolnavii ajung in stadiul final de evoluţie al bolii (puseul blastic").

Puseul blastic terminal al leucemiei granulocitare cronice. Un procent important, 2/3, vor prezenta în această perioadă de evoluţie tabloul unei leucemii acute micloblastice (micoloblaşti, megacarioblaşti maligni, eritroblaşti maligni).M1, M6, M7 este denumit puseu blastic clasic", tip myeloblastic, şi se face diagnosticul diferential cu puseu blastic „limfoid“, în care proliferează celule blastice, care au markerul, (Tdt, exprimă. CD46) (CALLA) şi alte antigene de tip limfocit B.

Colorația PAS este pozitivă, aceşti „markeri", limfoizi recunoscuţi au adus un beneficiu terapeutic; tratamentul cu Prednison, vincristin, cu remisiunea parțială a puseului blastic şi prelungirea duratei de viață a bolnavului. Amintim că un procent din aceşti bolnavi pot avea simultan semnele unei , neuroleucemii": cefalee rebela, varsaturi, semne neurologice de focar, compresiuni medulare. Examinarea lichidului cefalorahidian indică presiune.crescută şi limfoblaşti în număr variabil.

În rezumat, bine cunoscută la nivel molecular, cu indicaţii clare de tratament, cu achiziții terapeutice promijătoare de tip indicația tratamentului cu interferon şi transplantul medular, leucemia granulocitară cronică are o durată de viaţă destul de mică şi complicatii neaşteptate, greu de stăpânit prin tratament.

TROMBOCITEMIA ESENTIALĀ

Trombocitemia esențială (trombocitemia hemoragică) este o boală Mieloproliferativă cronică, rară. Dacă se urmăreşte izoenzima G6PD, aspectul ei sugerează că proliferarea celulei stem pluripotente este purtătoare de defect. Această proliferare explică numărul crescut de eritrocite, granulocite şi trombocite:

Trombocitemia esenţială este o boală rară mieloproliferativa, observată la pacienţi între 50-70 ani, En este o boală putin caracterizată.
Se pot descrie următoarele criterii de diagnostic:

1. Prezenta unui număr crescut de trombocite, persistent, peste 600.000/mm3

2. Hemoglobina este normala, 13 g/dl, cu o masa normala eritrocitară.

3. Depozite normale de fier in maduva

4. Absenta cromozomului Ph, sau a unui rearanjament al genei de fuziune her/abi.

5. Absenţa fibrozei medulare (dacă se descrie fibroză la 1/3-din măduvă, aceasta nu se insoteste de splenomegalie şi tablou leucoeritroblastic)

6. Absenţa cauzelor obisnuite care sunt însoțite de trombocitoză reactivă.

Aceste criterii de laborator se completează obligatoriu cu date clinice

1. Sângerări recurente datorate unor trombocite cu defect calitativ (hentatoamne spontane, epistaxisuri severe, hemoragii digestive superioare; hematurie). Acestea sunt în proporţie atât de mare, motiv pentru care această boală mieloproliferativă a fost denumită trombocitemia hemoragică (W. Dameshek, 1951

2. Accidente trombocitare, atat in teritoriul arterial, cât şi în cel venos.

3. In cursul evoluţiei, după un număr de ani, poate să se transforme in leucemie.acută, mieloblastică, mieloblastica sau megacarioblastica:

DIAGNOSTICUL DIFERENTIAL ...

Diagnostic diferential se face cu alte boli cronice.mieloproliferative însoţite de un număr crescut de trombocite şi cu trombocitozele reactive .Trombocitozele reactive sunt mult mai frecvente decat cele care au cauza de alterare neoplazică a celulelor' hematopoietice.

In diagnosticul diferențial cu trombocitozele reactive din alte stări ne mai pot ajuta următoarele criterii:

-Numărul De trombocite care atinge valoarea de 800 000/mm (numai 5% sunt cu un număr de 1 000 000/mm):

-Studiile agregare trombocitară (ATP/ADP)

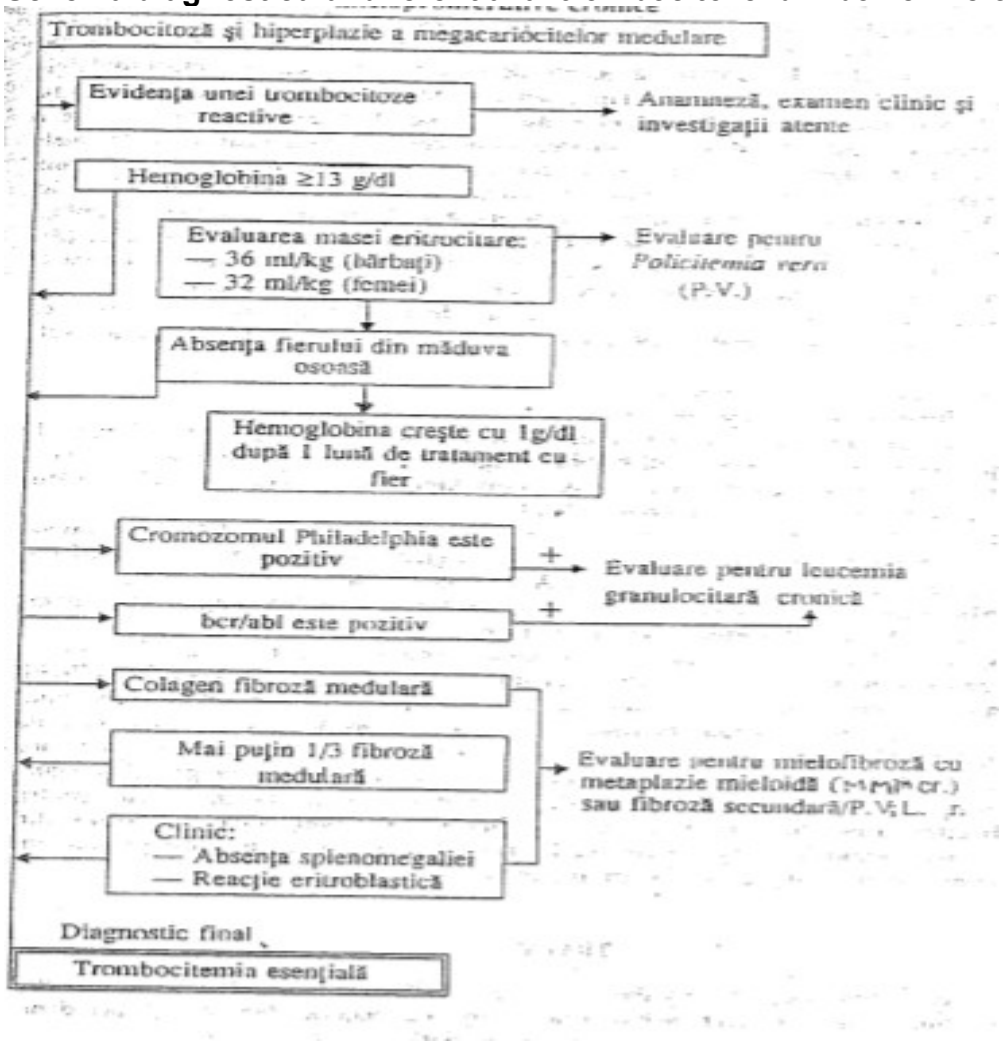
-Studiile de agregare trombocitara

-Curba de distributie a trombocitelor este crescută în trombocitemia esențială şi normala in formele reactive.

-Mărimea splinei

-Tromboze şi accidente hemoragice evidentiate clinic.

Schema diagnosticului diferential al trombocitozei din bolile mieloproliferative cronice


Trombocitoză şi hiperplazie a megacariócitelor medulare
Evidenţa unei trombocitoze reactive
Anamneză, examen clinic şi investigaţii atente
Hemoglobina ≥13 g/dl
Evaluarea masei eritrocitare:
— 36 ml/kg (bărbaţi)
— 32 ml/kg (femei)
Evaluare pentru Policitemia vera (P.V.)
Absenţa fierului din măduva osoasă
Hemoglobina creşte cu 1g/dl după 1 lună de tratament cu fier
Cromozomul Philadelphia este pozitiv
+
Evaluare pentru leucemia granulocitară cronică
bcr/abl este pozitiv
+
Colagen fibroză medulară
Mai puţin 1/3 fibroză medulară
Evaluare pentru mielofibroză cu metaplazie mieloidă (>1/3 cr.) sau fibroză secundară/P.V.; L.
Clinic:
— Absenţa splenomegaliei
— Reacţie eritroblastică
Diagnostic final
Trombocitemia esenţială

ASPECTUL CLINIC

Ocluziile microvasculare sunt frecvente în trombocitemia esenţială. Ele pot conduce la gangrene periferice la degete. Aproximativ 1/3 din bolnavi au parestezii descrise ca arsuri, usturimi, care se pot confunda cu o neuropatie diabetica. Ne reține în mod deosebit atenția aspectul descris sub numele de eritromelalgie (descrisă în 1878 de Mitchell). Tumefacția distală a falangelor de: la plantă, aspectul roşu, durere şi creşterea temperaturii locale. Acestea sunt exagerate de o temperatura crescută şi reduse prin răcirea tegumentelor (comprese reci). In unele cazuri, eritromelalgia poate să prevadă diagnosticul bolii cu 10 sau chiar" 16 ani

La biopsia de piele se descriu tromboze numai arteriorale, fiind respectate capilarele venulele şi nervii. Tratamentul indicat: aspirina şi Ticlidul. Se reţine pentru tabloul clinic al acestei boli prezenţa sindromului Budd-Chiari, sau tromboza venei hepatice (3).

Accidentele trombotice apar mai frecvent la pacienţii vârstnici, deoarece la numărul crescut de trombocite se asociază o boală vasculară degenerativă.

Splina este mărită in fazele timpurii ale bolii, dar se atrofiază treptat ca urmare a infarctelor repetate (autosplenectomie naturală). Boala este paradoxalı prin:

-sângerări în prezenţa trombocite mici:
-dimensiunile reduse ale splinei;
- dezvoltarea unei anemii hipocrome severe după o perioadă lungă de evoluţie, care o transforma într-o boală agresivă (anemia feriprivă determint hipoxia, care stimulează măduva osoasă, deja hiperplazică; creşte astfel numărul de trombocite cu accidente trombotice letale).

Durata de evolutie a bolii este greu de apreciat datorită episoadelor hemoragice care pot să apară spontan sau la un act chirurgical minor (extracție dentară) şi accidente trombocitare care pot cauza decesul bolnavilor.

Mielofibroza se dezvoltă în 8% din cazuri. La 10% din pacientii temie esenţială se transforma in leucemie acută.
Ca date de laborator notam: hemograma cu bazofile, creşterea acidului uric la un procent modest (22-28%) din pacienti - didactic dehidrogenaza (cu o valoare moderat crescut). Amintim și valoarea crescută a potasiului, cu tulburări de ritm .Sunt studii foarte elaborate privind agregarea trombocitelor din trombocitemia esențială la ADP, epinefrină, colagen şi chiar o agregare spontană a trombocitelor (hiperagregabilitate trombocitară) care pot explica eritromelalgia, gangrenele distale, trombozele arteriale în teritorii vitale. Sindromul hemoragipar, clasic pentru trombocitemia esențială, poate fi parţial explicat prin modificarea receptorilor din membrana trombocitelor (glicoproteina th: IIb, IIIa). Astfel, la un procent important din bolnavi există timp de sângerare prelungit.

TRATAMENT

Dacă diagnosticul de trombocitemie esențială este sigur, decizia terapeutică trebuie bine cântărită. Tratamentul este o urgentă majora, dacă există accidente trombocitare sau hemoragice în anamneza imediată.

Tratamentul in trombocitemia esențială cuprinde:

Şedinte de afereză -- reducerea sindromului de hipervâscozitate (4-5 şedințe).
Busulfanul in doză zilnică de 2mg este o indicatie ideală.

Hydrea (hidroxiurea) in doză 1-3 g/zi, o perioadă lungă de timp; acest medicament nu are efectele adverse ale Busulfanului.

Anagrelide în doză de 1,5--2,5 mg la 6 ore. Anagrelidui se prezintă sub formă de capsule de 0,5 mg sub denumirea comercială de Agrylin.

Indicaţia de interferon alfa recombinat pare utilă, în special in formele rezistente sau in cele care debutează cu un număr de trombocite peste 2000000 /d).

Dacă există accidente microtrombocitare se pot indica, sub atentă suprave ghere, aspirină ischemia arterială, eritromelalgia). Dacă pacientul are antecedente de sângerări (epistaxuri, sângerări gingivale), este total contraindicată. Decizia unei medicatie antiagregante este mult mai dificilă la pacienţii care prezintă şi tromboze şi accidente hemoragipare; se poate indica, cu prudență, agentul antiagregant Ticlidul — tablete a 250 mg.

Dacă pacientul prezintă o complicație de tip tromboflebita, se poate, cu prudenţă, apela la Heparină cu greutate moleculară mică sub o strictă suprave ghere de laborator.

MIELOFIBROZA IDIOPATICĂ (MIELOSCLEROZA, METAPLAZIA MIELOIDĂ AGNOGENICĂ)

Metaplazia mieloidă agnogenică, cunsocută şu sub numele de mielofibroză cu metaplazie mieloidă (MMM), este o boală mieloproliferativă cronică, care se observă la pacienţii între 40 și 70 de ani, fără a recunoaşte o predilecție pentru un anumit sex sau rasă.

Cercetarea izoenzimelor glucozo-6-fosfatdehidrogenazei şi a markerilor citogenetici a confirmat existența unei clone neoplazice în această boală, care derivă dintr-o celulă stem hematopoietică multipotent: Fibroblaştii, descoperiri in exces în măduva osoasă," nu-şi au originea în clona anormal. Referitor la patogenia mielofibrozei, s-a formulat următoarea ipoteză: clona neoplazică ar genera megacariocite animale, care eliberează factori stimulatori ai fibroblaştilor, determinând o fibroză medulară reactivă. In evoluţia bolii, măduva osoasă va fi dislocată progresiv de fibroblasti cu apariţia focarelor de eritropoieză extramedulară în ficat şi splină.

Principalele caracteristici clinice ale bolii sunt reprezentate de:

1) Splenomegalie moderată sau gigantă, prezentă la 90% din bolnavi. La 2/3 din aceşti pacienţi, splina este palpabilă la 5cm sub rebordul costal; în rest are un aspect tumoral şi ocupă o mare parte din abdomen, putand crea un disconfort funcțional. Se afirmă că în mieloscleroza cu metaplazie mieloidă, splina creşte cu 1 cm/an (Block, 1969).

2) Hepatomegalie moderată sau gigantă, prezentă la 60% din cazuri. Bolnavii pot prezenta circulaţie colaterală abdominală, datorită hipertensiunii portale, consecutivă hepato-splenomegaliei gigante. Un procent de 10% din pacienţi dezvoltă icter şi ascită în cantitate moderată.

3) Adenopatie în 15-30% din cazuri.

4) Semne generale de boală: anorexie, pierdere in greutate până la caşexie, Febră și transpirații nocturne (apar de obicei în stadiile avansate de boală).

Datele de laborator furnizează informații deosebit de importante. Hemograma indică o anemie de grade variate; de obicei, hemoglobina are o valoare de 8-10g/dl, hematocritul este de 22-30%, iar reticulocitele sunt crescute 5-10% (reticulocitoza nu este consecința heinolizei, ea provine din focarele de eritropoieză extramedulară). Numărul de leucocite este extrem de variabil poate fi normal 4000-8000 /mm'), crescut (până la 30 000/min.) sau scăzut 2000-4000 /mm).

De asemenea, numărul de trombocite poate fi mai mult sau mai puțin scăzut, iar în unele cazuri este chiar crescut (peste 1000000 /mm).

Frotiul de sânge periferic prezintă elemente caracteristice. Astfel, eritrocitele prezintă poikilocitoză marcată, unele dintre ele având un aspect de hematii, in picătura sau în lacrimă". Sunt prezenți, de asemenea, pe frotiu eritroblaşti policromatofili şi oxifili, care vin din focarele de eritropoieza extramedulară

Formula leucocitară prezintă obligatoriu un procent crescut de bazofile liteste deviată la stânga, eventual pănă la mieloblasti. Din aceste motive tabloul din sângele periferic prezintă un aspect leucoeritroblastic. Tot pe frotiu, se descriu megatrombocite palide, degranulate, alături de megacariocite mici, atipice şi nuclee libere de megacariocite, care provin tot din carele eritropoietice extrme dulare momcgacavoate Valoarea serică a acidului uric este crescută, peste 10mg%. Hiperuricemia poate determina guta. Fosfataza alcalina, leucocitară este frecvent crescut, dar uncori poate fi normali sau chiar scăzută. Eritrocitele pot prezenta un defect similar cu cel din hemoglobinuria paroxistică nocturnă; pacienţii pol snjuis(osi hemoglobinurie. Radiografia osoasă indică o creştere a densităţii osului (osteo- sclerozã) la jumătate din bolnavi.

Puncţia stemală este „albă", de accea se indică obligatoriu: biopsia de măduvă osoasă din creasta iliacă. Biopsia măduvei ciste al treilea element care sustine diagnosticul de metaplazie mieloidă, alături de splenomegalia gigantă şi de aspectul caracteristic al frotiului de sânge periferic. La biopsie se descrie o.măduvă osoasă dislocată de fibre de reticulina, colagen şi fibroblaşti, cu zone mici reziduale de hematopoiezã normală.

Alături de mielofibroza idiopatică există o categorie de boli care se pot asocia cu un MMM cronic secundar:

- alte boli mieloproliferative: leucemia granulocitară cronică, policitemia vera

-carcinoame (de pancreas), boala Hodgkin;

- tuberculoza;

-boala Paget.

Diagnosticul diferential al metaplaziei mieloide include, alături de afecţiunile asociate cu MMM cronic secundar, şi alte boli în care există splenomegalie şi anemic: leucemia limfatică cronică, leucemia granulocitară cronică, Limfomul primar splenic, splenomageiia congestivă şi parazitoze rare, cum ar fi leishmanioza şi schistosomiaza. În tabelul IX-4 este prezentat diagnosticul diferential, între leucemia granulocitară cronică, metaplazia mieloidă agnogenică şi reacția leucemoida.

Diagnosticul diferential intre leucemia granulocitara cronica, metaplazia mieloida agnogenica si reactia leucemoida

	Leucemia granulocitară cronică	*Metaplazia mieloidă agnogenică*	*Reacţia leucemoidă*
Splenomegalie	++	++/+++	-
Sânge periferic:			
— Neutrofile	++	+/-	++
— Granulaţii toxice	-	-	++
— Bazofile	++	+	-
— Eozinofile	+	+	-
— Anemie	+	++	+/-
— Hematii „în lacrimă"	-	++	-
— Eritroblaşti	+/-	++	+/-
Măduva osoasă:			
— Mielofibroză	+/-	++	-
FAL*:			
— Cromozomul Philadelphia	++	-	-

* FAL = fosfataza alcalină leucocitară.

Nu există un tratament specific pentru mielofibroza idiopatică. Pacienții cu anemie severă vor beneficia de transfuzii regulate. Se pot administra androgeni de sinteză, perioade indelungate de timp, pentru a stimula focarele de hematopoieză din măduvă, splină şi ganglioni, Acidul folic este adesea prescris pentru a asigura necesarul crescut de folați din această boală.

In formele cu splenomegalie gigantă se încearcă chimioterapia în doze mici:

Busulfan 2mg/zi sau Hidroxiuree lg/zi, Concomitent se administrează allopurinol pentru a preveni nefropatia urică şi guta!

Cea mai următoareie iportantă decizie terapeutică este spleneciomia, care se indică în:

-splenomegalie cu infarcte multiple:

-splenomegalie gigantă cu hipertensiune portală;

- trombocitopenie severă.

Totuşi, splenectomia este asociată cu o mortalitate postoperatorie crescută, datorită infecţiilor severe şi a accidentelor tromboembolice secundare trombocitozei reactive.

Durata medie de viață din momentul stabilirii diagnosticului este de ani.

Cu toate că există pacienti care pot supravietui 10—20 de ani. Cauzele de exitus în mielofibroza idiopatică sunt reprezentate de:

- hemoragie digestivă superioară dramatică, secundară hipertensiunii portale şi agravată de trombocitopenie;

- infecţii severe datorate leucopenie;

- insuficienţă renală acută prin descărcarea brutală de acid uric; transformarea în leucemie acută mieloblastică sau megacarioblastică (în 10—20% din cazuri);
-afecțiuni independente de boală, legale de vârsta înaintată (infarct miocardic).

Capitolul 10

LIMFOAMELE MALIGNE

GENERALITĂTI

Limfoamele sunt tumori maligne ale celulelor sistemului imun, localizate în diverse ţesuturi, definite prin absența tabloului leucemic la debutul bolii.

Cele 2 forme majore ale limfoamelor maligne sunt boala Hodgkin şi limfoamele nehodgkiniene. Limfoamele nonhodgkiniene sunt de 3 ori mai frecvente decât boala Hodgkin-şi pot să apară în orice țesut. Astăzi se disting cel puțin 10 entităţi majore clinico patologice cu manifestări polimorfe, diferite de cele ale bolii Hodgkin. In tabelul X-1 sunt prezentate comparativ date privind originea celulară a limfoamelor nehodgkiniene şi a bolii Hodgkin, localizarea principală a bolii, prezenta anomaliilor cromozomiale, posibilitatea de vindecare terapeutică.

Prezentare comparativa a limfoamelor nehodgkiniene şi a bolii hodgkin

	Limfoamele nehodgkiniene	*Boala Hodgkin*
Celula de origine	*limfocitul B sau T*	*controversiată*
Tabelul clinic		
Forma strict-localizată (ganglionar sau extraganglionar)	rară	frecventă
Forma extraganglionară	frecventă	rară
Forma mediastinală	rară	frecventă
Forma abdominală	frecventă	rară
Afectarea măduvei osoase	frecventă	rară
Manifestări sistemice de tip B	rare	frecvente
Modul de invazie ganglionară	prin discontiguitate	prin contiguitate
Anomalii cromozomiale	frecvente	în curs de cercetare
Procent de vindecare	25	75

Această comparatie este un argument că cele 2 tumori maligne ale țesutului limfatic sunt fundamental diferite.

Tratamentul pacienților cu limfoame maligne se aplică în funcție de subtipul histologic şi de stadializare clinică dependentă de extinderea bolii. Se afirmă astăzi posibilitatea de vindecare a multor limfoame cu o formă adecvată de tratament, ceea ce impune recunoaşterea lor în stadii timpurii pentru a obține o supravieţuire cât mai mare. Alte variante de limfoame, deşi destul de frecvente, nu sunt curabile şi necesită diferite scheme de tratament.

La primul diagnostic histopatologic sunt posibile erori de interpretare de aceea daca suspectăm accst tip de neoplasm, biopsia de tesut trebuie examinată obligatoriu de un hematopatolog cu experienţă.

Alegerea locului de biopsie este deosebit de importantă, de obicei se indică un ganglion mărit de volum (de preferat ganglionii cu localizare profundă, deoarece adenopatia superficială poate fi reactivă). Dacă localizarca nu este ganglionară biopsia se face prin endoscopie (bronşică, gastrointestinală). Primul gest după recoltare ganglionară este efectuarea unei amprente pe care se pot citi detalii morfologice mai bine decât pe secțiunile tisulare. Următoarea etapă consta in realizarea secţiunilor histologice după modelul clasic.Acestea trebuie să fie cât mai subțiri (în medie 3miu) și obținute din porţiuni diferite ale ganglionului.

Sectiunile ganglionare mai pot fi utilizate şi pentru coloraţii imunochimice speciale, pentru imunofluorescenţă (tehnica anticorpilor monoclonali) cât şi pentru studiul electronic.

ASPECTE ALE DIFERENȚIERII CELULARE ÎN LIMFOAMELE MALIGNE

In scopul înţelegerii limfoamelor maligne este utilă prezentarea principalelor aspecte legate de procesul de diferenţiere a celor două tipuri de limfocite B şi T.
Limfocitele sunt divizate în două populații distincte in funcţie de markerii moleculari ai suprafetei celulare. In trecut, populaţia limfocitelor B era recunoscută atât prin prezenta imunoglobulinelor policlonale de suprafață (IgS) cât şi prin capacitatea acestora de a produce anticorpi. La rândul ei populația T era clasic identificată prin fenomenul de rozetă în prezenţa. hematiilor de oaie. In ultimii 15 ani, folosirea anticorpilor monoclonali a permis stabilirea imunofenotipului atat pentru limfocitul B cât şi pentru T.
Astăzi pot fi recunoscute la nivelul unei linii celulare etapele de diferenţiere morfofuncțională; de asemenea, cu ajutorul tehnicilor moleculare care demonstrează rearanjarea genelor se poate preciza evoluţia clonala a unui anumit tip de celulă limfoida.

ONTOGENIA LIMFOCITULUI B

Ontogenia limfocitară B este prezentată schematic in fig. 10.1.
Limfocitul B se formează din celule precursoare, celula suşă mieloidă din măduva osoasă. Ea parcurge în cursul diferenţierii şi maturării funcționale mai multe stadii: celula-B - celula matură Celula B care devine activă cu potential mare de proliferare celula B diferentiata - celula B matura, celula secretorie - plasmocitul. Plasmocitul este o celulă finală în linia de diferenţiere a populaţiei B, și este eficientă numai prin secreţia de imunoglobulină de un anumit tip din cele 5 tipuri de imunoglobuline normale (fig. 10.1 şi tabelul X-1). Aceste stadii sunt recunoscute prin prezența unor antigene citoplasmatice şi de suprafată (vezi tabelul X-2). Antigenele de suprafață, intentional sunt desemnate prin iniţialele C.D. (..cluster determinants"):Tabelul X-2
Impărțirea generală a antigenelor de suprafață ale limfocitului B

- antigene comune pentru mai multe stadii de diferenţiere „pan antigene"
- antigenele limfociuiui pre-B (limfocitul B cap de serie)
- antigenele de repaus ale limfocitului B • antigenele de activare:
- antigene de activare asociate antigene de activare restrictive ale limfocitului B
- antigenele plasmocitului

Reținem că două dintre toate antigenele pe care le vom prezenta, D9; CD 20 - sunt exprimate pe suprafata celulei şi în toate etapele de diferenţiere.de la pre-B până la stadiul de plasmocit. La nivelul celulei limfocitare pre-B va fi la suprafață un antigen propriu acestui stagiu timpuriu, CD 10, care va coexista cu panantigenele limfocitare. În citoplasma celulei foarte tinere apare lanțul greu tip u. Obligatoriu, la suprafață va exista şi la cele care desemnează complexul de histocompatibilitate clasa I.

Când celulele pre-B se maturează, părăsesc măduva şi ajung în sângele periferic și în țesuturi unde pot fi activate de un antigen.
Antigenele de repaus sunt CD 21, care funcționează ca receptor pentru fragmentul Ci de clivaj al complementului, dar foarte important şi pentru virusul Epstein-Barr.
Alte antigene de repaus sunt CD 22 şi CD 35; acesta din urmă va fi receptor pentru fragmentul C3b al complementului. Alături de Ag de repaus in stadiul de masurare, la suprafaţă vom găsi exprimate imunoglobuline tip IgM si IgD. (IgD este denumit receptor pentru limfocitul B). Toate acestea vor coexista cu pan antigenele.

După contactul cu un antigen sau sub impulsul altor semnale de activare, limfocitele B mature, în repaus, vor fi activate şi in continuare se multiplică,proliferează. Studiile efectuate in vivo şi in vitro au arătat că, în acest moment, apare exprimarea antigenelor de activare pe suprafaţa celulei. Le-am impartit schematic in antigene de activare, asociate: CD 71: CD 54; CD 25: CD 23: CD 5 şi antigene de activare restrictive care includ: B5, BB-1/87 şi Bac-1.
Amintim că CD 71 este receptor pentru transferina, CD 25 este receptor pentru interleukin 2 CD 23 receptor pentru imunoglobulina E.
Un aspect foarte important, obligatoriu de retinut, este acela că limfocitele B activate pierd IgD, CD 21, CD 22 (antigene de repaus). IgM va fi şi el pierdut in momentul diferenţierii finale a limfocitului B în plasmocit.
Pierderea antigenelor de suprafață fie de tip pan antigene, sau antigene de activare are loc in continuare, pa măsură ce limfocitul B ajunge o celulă mult diferenţiată funcțional. Ca urmare, în stadiul final, când limfocitul B are aspectul morfologic de plasmocit şi este numit celulă secretorie, el va avea la suprafață un număr restrâns de antigene, CD 38 şi ACP-1 (antigenul celulei plasmocitare-1).

REARANJAREA GENELOR IMUNOGLOBULINELOR

Limfocitele B devin functionale, mature, când sunt capabile să secrete imunoglobuline.
Numărul moleculelor posibile de imunoglobuline este vast, iar fiecare corespunde unei anumite porțiuni din antigen denumită epitop. Se consideră că această difersitate rezultă din recombinarea genetică ce se produce in ADN-ul din nucleul limfocitar B. In ADN este conținută informația necesară sintezei diferitelor subunităţi ale moleculei de imunoglobulină. Este cunoscută structura acestei molecule ce cuprinde lanțuri grele (H) şi lanţuri uşoare (L). Pe fiecare lanț există o regiune variabilă (V) şi o regiune constantă (C). În plus, lanțul greu va avea un segment D (diversitate) şi un segment J (joncțiune), iar lanțul uşor numai un segment J.
Exprimarea clasică ar putea fi V, D, J. C pentru lanțul greu şi V, J, C pentru lantul uşor.
Mecanismul prin care se realizează rearanjarea genelor care codifică lanțurile grele constă în alăturarea la o regiune constantă C a câte unui singur segment V, D şi J şi îndepărtarea celorlalte segmente. Astfel, numărul recombinărilor posibile pentru segmentele V, D şi este enorm. La nivelul celulei primitive a limfocitului pre-B există in ADN un număr infinit de gene pentru fiecare segment V, D,J , C.
Pe măsură ce limfocitul se diferenţiază, acestea se restrâng; în nucieu rămâne un număr limitat de segmente V, D, J, C. Informația lor genetică va apărea în citoplasmă sub forma unui ARN-m ce va conţine un mesaj unic necesar sintezei unui anumit tip de lant greu. Acelaşi model denumit rearanjarea genelor se aplică şi pentru lanţul uşor (vezi figura 10.2).

ONTOGENIA LIMFOCITULUI T
Un număr mare de anticorpi monoclonali au fost folosiți pentru a defini antigenele de suprafață ale limfocitelor T umane.

Cu ajutorul acestora s-au identificat etapele de diferenţiere al imfocitului T, de la o celulă precursoare tânără până la stadiul de celulă efectoare de tip helper, supresor sau citotoxic (vezi figura 10.3), realizându-se o corelatie între aceste etape şi bolile maligne ale limfocitului T.

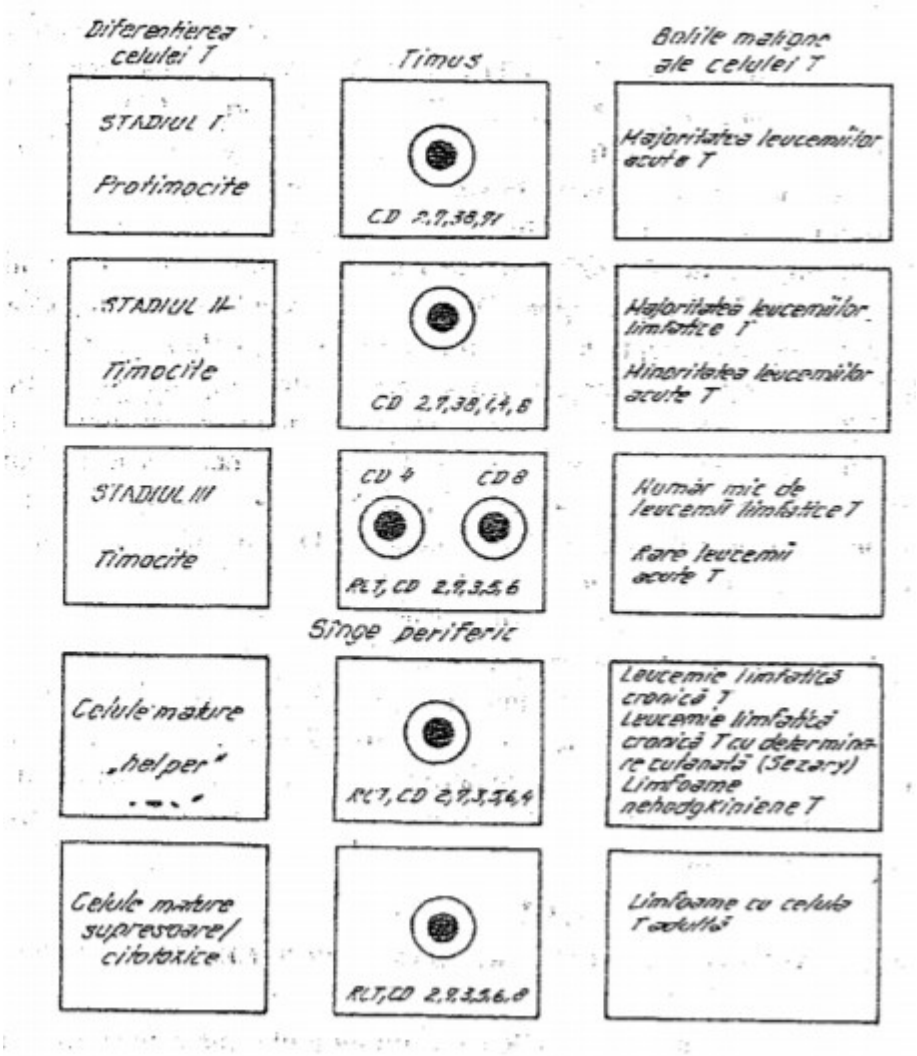


Fig. 10.3. **Corelația între diferenţierea limfocitului şi bolile maligne ale limfocitului T.**

Limfocitul T se formează dintr-o celulă precursoare comună cu limfocitul B, denumită celulă suşă limfoid localizată în măduva osoasă. Din ea vor lua naştere celule fiice T care vor migra în timus in timpul perioadei embrionare şi postnataie precoce. Micromediul ambiant din timus este locul de prelucrare şi dezvol- are a limfocitelor Tinu Competente. Din timus ele vor ajunge în organcie limfoide periferice (ganglioni, splină) şi în circulaţie.
În stadiile timpurii ale diferenţierii intratimice, 10% din Limfocite your exprima receptorul CD 2 care aglutinează hematiile de oaie în jurul celulei işi este implicat in fenomenul clasic de rozetare. Cu ajutorul acestuia se recunoaşte rapid şi' global populația T. Tot in acest stadiu celulele T exprimă şi receptorii: CD 71 pentru transferină, CD 38 şi CD 7.
Stadiul II în diferenţierea timocitelor este caracterizat prin pierderea CD 71, achiziționarea CD 1 şi coexprimarea CD 4. şi CD8. Această populaţie reprezintă valoare numerică mare (70% din timocile) si deci ca va exprima CD 1247838

In stadiul II maturarea continuă, celulele pierd CD 1 şi câştigă CD 3, CD 5, CD 6 (antigene cu număr care lipsesc în stadiul anterior).
Acest moment in dezvoltarea limfocitului T este foarte important deoarece CD 3 care apare (complex de lanturi) este asociat după un model 'neçovalent cu receptorul limfocitului T pentru antigen (TCR). Se realizează astfel complexul TCR CD3 care intervine în recepţionarea informației de la celula prezentatoare de antigen. TCR este compus din lanțuri oß și recunoaşte antigenul străin numai în contextul inglobării acestuia în complexul major de histocompatibilitate (MHC).

CD3 transmite semnalul nucleului celulei, care declanşează apariţia la suprafaţa limfocitului numai a CD 4 sau a CD8; Semnalul este specific în funcție de sistemele de histocompatibilitate MHC I pentru CD 8 și MHC II pentru CD 4, sisteme care conțin antigenul prezentat limfocitului T prin TCR.
Celulele care părăsesc timusul se împart în 2 subtipuri:
- 60 - 70% sunt celule helper care exprimă CD 4.
- 30 - 40% aparţin limfocitelor supresoare şi exprimă CD 8..
Astfel se menține raportul T helper/T supresor (2:1) care asigură homeostazia sistemului imun.
Limfocitele T periferice activate vor dobândi în plus noi antigene:CD 25 (receptor pentru IL2) și CD 26. Receptorii CD 71 (pentru transferina). CD 9 şi CD 38 apar mai târziu.

REARANJAREA GENELOR PENTRU RECEPTORUL CELULEI (TCR)

Lanțurile alfa și beta din structura TCR ca şi imunoglobulinele prezintă o regiune constantă şi una variabilă. Genele care codifică aceste lanturi. suferi rearanjări după un model asemănător cu cel descris pentru genele imunoglobulinelor produse de limfocitulß(vezi figura 10.4).
Lanțul alfa are porțiuni V.J, C iar lanţul Beta are V, D, J,C.
Perturbările care intervin în fenomenul de rearanjare a genelor þentru un receptor TCR pot fi corelate cu apariţia 'unui anumit tip de limfom cu celule T.

LIMFOAMELE NEHODGKINIENE

EPIDEMIOLOGIE

In categoria tumorilor solide limfoamele nehodgkiniene detin o pondere mică; totuşi, la pacientii cu neoplazii între 20 şi 40 de ani ocupă locul al 4-lea.
Statistic s-a constatat o creştere a limfoamelor nehodgkiniene in paralel cu numărul cazurilor de SIDA.

ETIOLOGIE

Pentru cele mai multe limfoame maligne nu a fost identificată o cauză specifică. Totuşi, câteva tipuri distincte de limfoame nehodgkiniene au fost asociate cu etiologia virală. De exemplu, limfomul Burkitt din Africa este o entitate clinică unică, eviden: asociată cu virusul Epstein-Barr. În acest limfom apare translocatie caracteristică 14:8. Virusul Epstein-Barr afectează limfocitul B. genomul său se integrează in ADN-ul acestei celule şi modică proprietăţile.
Mult mai recent a fost descoperită o familie de retrovirusuri cu tropism pentru limfocitul T. Unul din membrii acestei familii, virusul leucemiei umane cu celula T (HTLV-7), a fost incriminat în etiologia unui tip distinct de limfom denumit limfomul leucemic cu celula T al adultului. HTLV-1 este endemic în regiunea sud-estică a Japoniei, in insulele Caraibe, în Africa și în sud-estul Statelor Unite. Modalităţile de contaminare sunt: administrările intravenoase de medicamente, transfuziile, transplacentar de la mamă la făt şi posibil prin laptele matem. S-a constatat că numai 1-2% din persoanele infectate dezvoltă limfom cu celule sau leucemie Limfoamele maligne pot să apară în legătură cu o varietate foarte mare de rdini imunologice. Recent s-a constatat că 10% din pacienţii cu sindrom Sjögren dez voltă o formă de limfom. Tratamentul imunosupresiv pentru transplantul de inimă, ficat, rinichi, și anuine folosirea de azathioprină, Prednison, ciclofosfamidă sau. Ciclosporină este asociat cu apariţia limfoamelor maligne la un procent de 4-6 din pacienti
În boala Hodgkin, ca o complicaţie a chimioterapiei agresive se observă apariţia celui de-al 2-lea cancer care poate fi, în unele cazuri, un limfom malign nehodgkinian,in sfârşit, există supoziţia că o stimulare antigenică cronică, cum este cea care se observă în bolile inflamatorii intestinale sau cea obţinută cu unele medicamente ca Fenitoina ar putea predispune la apariţia limfoamelor maligne.

Conditii asociate cu un risc crescut de apariţie a limfoamelor maligne
Boli cu imunodeficienta congenitală:
- Sindromul Klinefelter
- Sindromul Chediak-Higashi
-Sindromul Wiskott-Aldrich
Boli cu imunodeficienţă dobândită:
- Imunosupresia iatrogenă
-Sindromul de imunodeficienţă dobândită
- Hipogamaglobulinemie dobândita
Boli autoimune
- Sindromul Sjögren
-Sprue netropical
- Artrita reumatoida şi boala lupică
- Administrarea unor medicamente sau agenți fizici .
-Fenitoina
- Iradierea
Terapie combinată (iradiere şi chimioterapie) în boala Hodgkin Virusuri (altele decât HIV)
- Virusul Epstein-Barr
- Virusul leucemiei umane cu celulă T.

DEBUTUL CLINIC. DIAGNOSTIC POZITIV ŞI DIFERENTIAL

Debutul clinic poate fi ganglionar sau extraganglionar.
Debutul ganglionar
Poate fi unic sau multiplu, supra- sau subdiafragmatic. In general se consideră că orice ganglion de consistenţă dură, rotund, cu diametrul mai mare de 1 cm, care nu a apărut în legătură cu o infecție evidentă şi care persistă mai mult de 4-6 săptămâni trebuie biopsiat.
În prezenţa acestei adenopatii, diagnosticul diferenţial trebuie făcut cu un proces infecțios cauzat de virusuri, bacterii sau paraziți, cu o neoplazie primitivă sau cu o metastază.
Fiecare stație ganglionară poate fi afectată, impunând un diagnostic diferenţial specific.
În cazul unei adenopatii laterocervicale trebuie excluse infectii bacteriene sau virale (tuberculoza ganglionară, amigdalite cronice cu streptococice, mononucleoza infecţioasă, infecţii cu citomegalovirus, cu virusul imunodeficientei umane). precum şi infestări parazitare (toxoplasmoza). La pacienţii tineri rebuie luată în consideraţie posibilitatea existenței unei boli Hodgkin. La bolnavii varstnici alte neoplazii trebuie excluse obligatoriu: metastaze supraclaviculare din carcinomul gastric, bronhopulmonar sau sân.
Dacă ganglionii sunt epitrohleeni, diagnosticul diferential se face cu infectii bacteriene la distanţă (microtraumatisme ale mâinii cu suprainfecție) dar şi cu sarcoidoza.

Deşi mai puţin frecvent ca in boala Hodgkin, aproximativ 20% din pacienţi prezintă adenopatie mediastinală. Aceşti bolnavi acuză de obicei tuse persistenta, durere toracică sau uncori sunt asimptomatici cu descoperire intâmplătoare la examenul radiologic mediastino pulmonar. Foarte rar, afectarea mediastinală este insotită de sindromul de venă: cavă superioară. Diagnosticul diferential include infecții (tuberculoza, histoplasmoza, mononucleoza infecțioasă), sarcoidoza, boala Hodgkin ca şi alte tipuri de neoplasme cu dehut primitiv mediastinal: Afectarea la debut ganglionilor retroperitoneali, mezenterici, pelvieni este obişnuită în multe subtipuri histologice ale LNH. De obicei pacienţii sunt asimptomatici, mai ales dacă ganglionii sunt de talie medie şi nu produc fenomene obstructive. Foarte rar bolnavii se prezintă pentru dureri abdominale cronice, senzație de plenitudine şi saţietate precoce, pentru simptome asociate "obstrucţiei viscera chiar perforaţie acută şi hemoragie gastro-intestinala .
In mod excepțional, masele ganglionare paraaortice sau pelviene pot fi de 1 debut masive, provocând compresii pe căile limfatice cu ascită chiloasă şi edeme declive.

Debutul extraganglionar
Include limfoame: gastro-intestinale primitive
-hepatice
- splenice
- osoase
- cutanate
-pulmonare
-cerebrale, tiroidiene, testiculare
-ovariene, de prostată, vezică urinară, rinichi, sân.
Limfoamele gastro-intestinale primitive reprezintă 4% din totalul limfoamelor nehodgkiniene. De obicei, sunt localizate la nivelul stomacului, mai puțin la nivelul intestinului subţire şi colonului. Leziunile gastrice pot fi de tip infiltrativ difuz, ulcerativ sau polipoid. Manifestările clinice sunt nespecifice: dureri epigastrice vagi, greata, vomă, anorexie. Confuzia cca mai frecventă se face cu carcinomul gastric; diagnosticul se pune numai intraoperator. Limfoamele intestinale primitive debutează printr-un sindrom de malabsorbție, rezultat ca urmare a atrofici vilozitare, secundare inliluării ţesutului linfoid.
Ca manifestări neurologice in cadrul limfoamelor NH se amintesc sectiunea acută a măduvei spinării, ca urmare a compresiunii exercitată de o tumoare extradurala, meningita limfomatoasă, precum şi tumori primare cerebrale cu manifestări polimorfe în funcție de localizare. Acestea au devenit mai frecvente datorită relației cu SIDA şi cu tratamentul imunosupresiv îndelungat.
Un debut rar cu semne generale: astenie, pierdere ponderala, stare subfebrilă asociază o anemie moderată, neexplicată. La aceşti pacienți urmărirea în timp, 3 6 luni, sau aplicarea imediată a unor investigații mai sensibile (biopsie de măduvă osoasă, tomodensitometrie RMN, investigatii imunologice, scintigrafie), evidentiaza un LNH ganglionar sau extra ganglionar in stadii subclinice.

CLASIFICAREA ANATOMOPATOLOGICA

Clasificarea anatomopatologică a limfoamelor nehodgkiniene este o sarcină dificilă şi pentru anatomopatolog şi pentru clinician.
Diagnosticul de limfom nehodgkinian este susținut numai prin examinarea unui tesut: biopsie ganglionară, biopsia din tractul gastro-intestinal, biopsia din ficat măduvă osoasà, din plămân, din os sau din orice organ suspectat.
Fiecare schemă are o argumentare pusă la punct histopatologic şi imunologie

Reținem indiferent de clasificare că prima și mai importantă decizie pe care trebuie să o ia clinicianul şi histopatologul este aceea dacă celuia care proliferează este malignă. Argumentele de proliferare de tip neoplazic sunt bine precizate astfel acurateţea între schemele privind malignitatea este intre 86-96%, cazurile fiind urinărite perioade de timp. De asemenea, aprecierea aspectului de proliferare foliculară sau difuză trebuie să lie de preocupare majoră. Dacă ne referim însă la subtipul histologic, care ocupă uneori mai mult de jumătate din timpul histopatologului, diferentele intre încadrările histopatologice variază între 53 - 93%.

Clasificarile internaţionale ale limfoamelor maligne non-Hodgkiniene:

1. Formula de lucru international -

2. Clasificarea Rappaport

3. Clasificarea Lukes şi Collins

4. Clasificarea Kiel

5. Clasificarea naţională engleză

6. Clasificarea Dorfaman

7. Clasificarea REAL:

Limfoamele nehodgkiniene recunoscute ca o entitate anatomo-clinică în 1942 au fost clasificate, pe parcursul anilor, după mai multe scheme. Schema cea mai veche, dar care este încă general acceptată, datorită uşurinţei cu care poate fi inţeleasă, este clasificarea lui Craver, Gall şi Malory. Aceasta împarte limfocitele nonhodgkiniene in

- - limfom gigantofolicular;
- Limfosarcom;
- reticulosarcom.

În 1969 Rappaport, urmărind aspectul histologic la microscopul cu obiectiv mai mare, a făcut împărţirea în:

- - limfom nehodgkinian, nodular, folicular cu păstrarea de zone fără infiltrat cu celule maligne;

- limfom nehodgkinian difuz, cu distrugerea arhitecturii şi infiltratii cu celule e a intregului ganglion, sau a zone tisulare biopsice.

În continuare, Rappaport a clasificat limfoamele după aspectul morfologic in:

- limfom nehodgkinian cu limfocit bine diferentiat;

- limfom nehodgkinian cu limfocit puțin diferentiat:

- limfom nehodgkinian cu celulă histiocitară

Prin descrierea tipului de limfom nehodgkinian histiocitar s-a sugerat că ar putea fi discutată și proliferarea seriei monocitare, alături de proliferarea seriei limfocitare, ceea ce nu corespunde adevărului. Clasificarea lui Rappaport şi-a pierdut din importanţă.
Imunologia modernă a arătat clar că toate limfoamele nehodgkiniene, au la originea lor proliferarea limfocitului. Astfel, în 1974 a apărut o noua clasificare a lui Lukes, Collins şi Kiel. Pentru a oferi în egală măsură clinicianului, histopatolo gului şi monologului o schemă de lucru accesibilă“, 6 grupe independente de cercetători şi clinicieni s-au pus de acord asupra formulării unei scheme interna tionale de clasificare a limfoamelor nehodgkiniene „Schemă de lucru. conform acestei scheme de lucru (tabelul X-3), vom accepta că din celula mfojda Astfel, susă precursoare se formează două linii celulare, B şi T, fiecare recunoscută prin antigene specifice, prin markeri proprii imunologici (vezi ontogenia populaţiei limfocitare B şi a populaţiei T).

Clasificarea histologica limfoamelor nebodgkiniene

Clasificarea internaţională (de orientare în prognostic şi tratament)	*Clasificarea Rappaport*	*Originea celulei %*		*Anomalii cromozomiale*	*Potenţialul de curabilitate prin chimioterapie*
		B	*T*		
LIMFOAME CU EVOLUŢIE BENIGNĂ	–				
A. Difuz cu celulă mică neclivată	Limfocitar difuz bine diferenţiat	98	2	Trisomia 12 t (11, 14) t (14, 19)	A. Nedovedit
B. Folicular cu celula mică clivată	Limfocitar nodular puţin diferenţiat	100	–	t (14, 18) t (14, 18) Trisomia 8	B. Nedovedit
C. Folicular mixt cu celulă mică clivată şi celulă mare	Modular mixt limfocito-histiocitar	100			C. Controversat
LIMFOAME CU EVOLUŢIE CLINICĂ INTERMEDIARĂ					D. Controversat E. Controversat F. Dovedit G. Dovedit
D. Folicular cu celulă mare	Histiocitar nodular	100		Trisomia 7	
E. Difuz cu celulă mică clivată	Limfocitar difuz puţin diferenţiat	80	20	Trisomia 3	
F. Difuz mixt cu celulă mică şi celulă mare	Difuz mixt limfocito-histiocitar	90	10		
G. Difuz cu celulă mare	Histiocitar difuz	80	20	Trisomia 7, 18 t (14, 18)	
LIMFOAME CU EVOLUŢIE SEVERĂ					
H. Imunoblastic	Histiocitar difuz	80	20		H. Dovedit
I. Limfoblastic	Limfoblastic difuz	10	90		I. Dovedit
J. Burkitt cu celulă neclivată	Difuz nediferenţiat	95	5	t (8; 14)	

In continuare criteriile pentru clasificarea limfoamelor vor fi reprezentate de:mărimea limfocitului, aspectul morfologic al nucleului şi prezența sau absenţa unor modificări în citoplasma. In seria limfatică B, limfocitul malign poate avea următoarele aspecte morfologice.

- limfocit B de talie mică, cu aspect de limfocit bine diferentiat morfologic;

- limfocit B mic, dar cu nucleu clivat;

-limfocit B de talie mare, cu nucleul rotund, cu citoplasmă clară:

- limfocit B de talie mare, cu nucleu rotund cu citoplasmă plasmocitoidă (imunoblast):

-limfocit B de talie mare cu nucleoli bine vizibili (limfoblast):

- limfocit mic, caracteristic limfomului Burkitt (cu anomalii cromozomiale caracteristice).

Linia limfocitară T, maligna, diferentiată din aceeaşi celulă unipotentă limfoidă va putea îmbrăca următoarele aspecte morfologice:

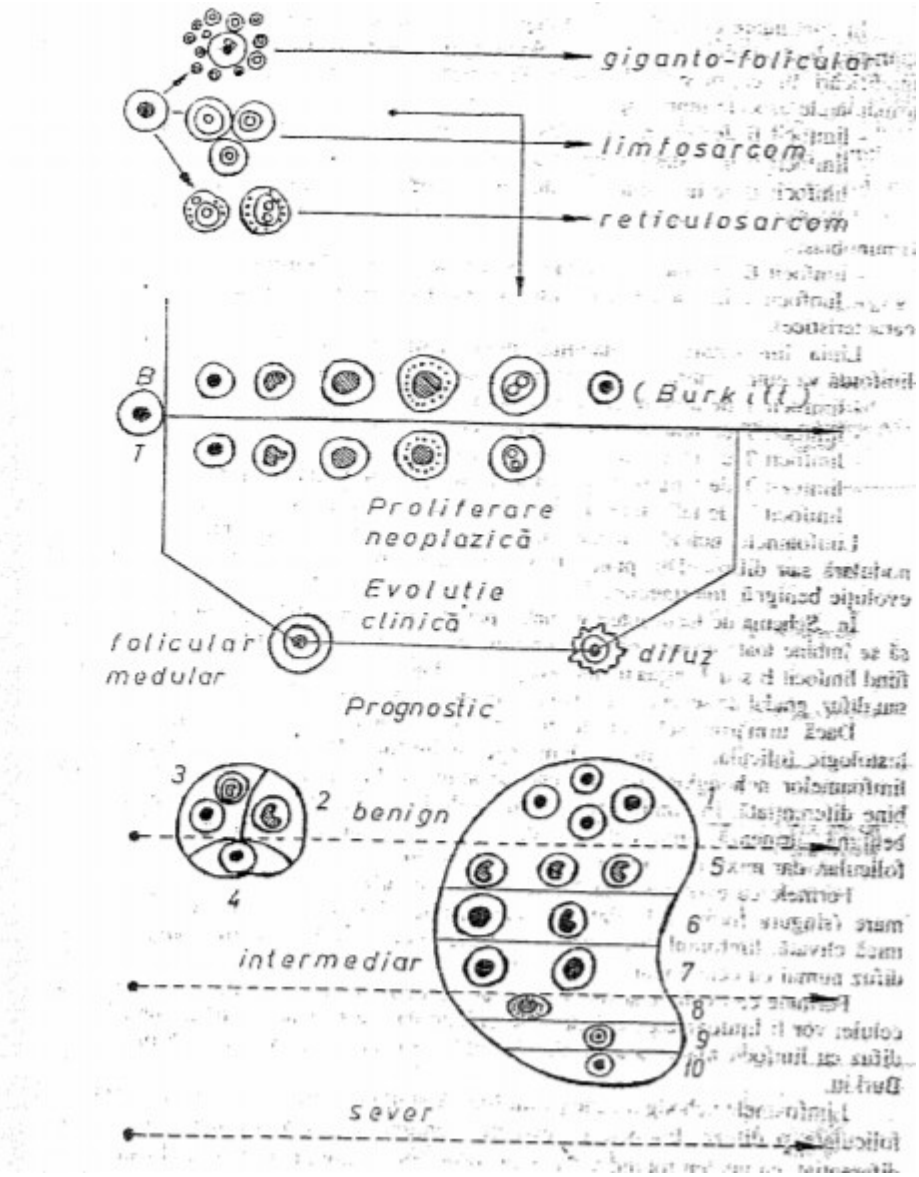
- limfocit T de talie mică cu nucleu! rotund:

- limfocit T de talie mică cu nucleu cerebriform;
- limfocit T de talie mare cu nucleul rotund:
- limfocit T de talie mare cu citoplasmă plasmacytoid imunoblast):
- - limfocit T de talie mare cu nucleoli bine vizibili (limfoblast).

Limfoamele nehodgkiniene cu celula B sau T pot prezenta o proliferare nodulară sau difuză. Din punct de vedere al medicului clinician, ele pot avea o evolutie benigna, intermediară sau severă. In ,,Schema de lucru internaţională" pentru limfoamele nehodgkiniene se încearcă să se îmbine toate aceste criterii: linia limfocitară definită prin criteriul imunologic ca fiind limfocit B sau T, aspectul morfologic al celulei maligne, proliferarea de tip nodular sau difuz. de severitate al evoluţiei clinice (vezi figura 10.6).
Dacă urmărim schema, limfoamele cu evoluţie benignă clinic au aspect histologic folicular şi sunt predominant cu limfocit B. Totuşi, pe primul loc a limfoamelor nehodgkiniene, benigne se situează limfomul difuz cu celulă mică, bine diferenţiată. In continuare, în grupul de limfoame nehodgkiniene cu evolutie benignă, urmează limfomul folicular cu celulă mică clivată şi limfomul tot folicular, dar mixt, cu celulă mică clivată şi celulă mare.
Formele cu evoluţie clinică intermediară cuprind limfomul folicular cu celulă mare (singura formă foliculară în acest stadiu clinic); limfomul difuz cu celulă mică clivată, limfomul difuz mixt cu celulă mică clivată şi celulă mare, limfomul difuz numai cu celulă mare.
Formele cu evoluţie severă clinică au aspectul de limfom difuz. După aspectul celulei vor fi limfoame cu celulă mare cu citoplasmă plasmocitoidă (imunoblastic); difuz cu limfocit mare cu nucleoli (limfoblastic); difuz cu celulă mică tip limfocit Burkitt.

Limfoamele nehodgkiniene cu limfocit T sunt mai rare. Ele pot fi, de asemenea, foliculare, şi difuze. Formele cu evoluţie benigna sunt cele cu limfocit mai bine diferenciat, cu nucleu rotund sau cerebriform. Ele sunt extrem de rare. În sladiul de evolutie clinică intermediară sunt cuprinse limfoame difuze cu limfocit T mic, cu nucleu cerebriform: limfoame difuze mixte cu limfocit mic şi limfocit mare şi limfoame difuze numai cu celula mare.

Modul de curelare a aspectului histopatologic.cu evoluţia clinică şi prognosticul limfoamelor nehodgkiniene



În formele cu evoluţie severă, cu grad mare de malignitate limfoamele T sunt cele mai frecvente. Ele vor avea următoarele aspecte morfologice: cu celulă mare imunoblastică, cu celulă mare limfoblastică şi un procent mic cu celulă mică tip Burkitt.
Nu a fost inclusă in această Schemă internațională de lucru" limfomul pur histiocitar, care este o proliferare neoplazică a monocitului - macrofag (histiocit) cu un aspect particular de eritrofagocitoză.
Concluzie. Majoritatea limfoamelor maligne nehodgkiniene sunt cu limfocit B (60 - 70%), un procent mic cu limfocit T. In grupul de limfoame cu celuia T domină forma agresivă cu celulă mare tip limfoblastic.

In cursul prezentării clinico-histologice a limfoamelor nehodgkiniene vom intalni 3 paradoxuri: (1) forma cu evoluţie benigna incepe cu un tip histologic difuz, cu celulă mică şi nu cu o formă foliculară; (2) formele cu evoluție benignă şi intermediară, în mod obişnuit, au multiple avea. 1-2 localizări tumorale; (3) formele ocalizări, iar cele cu evoiaţie severă pot cu evoluție benignă și intermediară sunt asimptomatice. Boala evoluează lent şi, aparent, nu este indicată o formă de tratament din primul cu limfoame de tip benign sunt incurabili. Durata lor medie de viaţă este de 7 ani. moment al descoperirii boiii.
Surprinzător, bolnavii cu limfoame nehodgkiniene cu evoluție severă, de multe ori localizată, pot beneficia de o formă agresivă de tratament, care induce remisiuni complete la 1/2 din bolnavi şi vindecare la 30%.

Dacă astăzi sunt cunoscute şi acceptate aspectele histologice conform biopsiei, şi corelația cu evoluţia bolii, tot atât de importantă este stadializarea clinică. Ea se face după criteriile stadializării Ann Arbor; are importanţă mai mică dacă o comparăm cu valoarea ei în boala Hodgkin dar ea va dicta in continuare atitudinea terapeutică (vezi tabelul X-4).

Stadializarea clinică a limfoamelor Ann Arbor

Stadiul I	afectarea unui singur ganglion sau o singura determinare extraganglionart supra sau subdiafragmatică (cerebralā, testicular, ovariană etc.).
Stadiul II	afectarea a doi sau mai multi ganglioni de aceeaşi partea dinfragmului, sau 2 organe extraganglionare de aceeaşi parte a diafragmului (1 E)
Stadiul III	afectarea ganglionilor supra şi subdiafragmatici sau determinări extraganglionare supra și subdiafragmatice
Stadiul IV	afectare de tip diseminar (cu mai multi nodului tumorali) u unuia sau a mai multor organe extralimfatice cu sau fără adenopatic

STADIALIZAREA CLINICĂ. DESCOPERIREA EXTENSII BOLI

Stadializarea clinică urmăreşte ca, după diagnosticul histologic, să se descopere extensia bolii. Pentru aceasta se examinează clinic, atent şi repetal bolnavul şi se apelează la examene de laborator sau investigatii mai laborioase.
În limfoamele nehodgkiniene extensia bolii, se face pe cale hematogenă, în principal, deosebit de boala Hodgkin in care extensia se face in special pe cale limfatică.
Pentru o stadializare cât mai bună este obligatoriu un plan ordonat de investigaţii.
Il prezentăm în comparație cu investigațiile din boala Hodgkin (vezi tabelul X-5).

Teste pentru stadializarea limfoamelor maligne

Test	Nehodgkiniene	Boala Hodgkin
Esenţiale		
1. Diagnostic histopatologic afirmat de hematopatolog	x	x
2. Examinarea atentă a tuturor maselor ganglionare	x	x
3. Căutarea semnelor B de boală	x	x
4. Date de laborator	x	x
- hemogramă completă	x	x
- teste funcţionale hepatice	x	x
- teste funcţionale renale	x	x
- fosfataza alcalină serică	x	x
5. Radiografia pulmonară	x	x
6. Tomografia computerizată pentru abdomen şi pelvis	x	
7. Biopsia măduvei osoase - bilateral		
Esenţiale în anumite circumstanţe		
1. Limfografia bipedală	-	x
2. Biopsia măduvei osoase - bilateral	-	x
3. Tomografia computerizată pentru torace dacă radiografia pulmonară este anormală	x	x
4. Laparatomie exploratorie	-	x
5. Biopsia hepatică	x	x
Teste speciale, utile numai în anumite circumstanţe		
1. Limfografia bipedală	x	
2. Laparotomia exploratorie	x	
3. Ultrasonograma abdominală	x	
4. Explorarea cu izotopi	x	x
a) oase	x	x
b) ficat-splină	x	x
c) Gallium [57]	x	-
5. Tomografia computerizată a craniului	x	x
6. Rezonanţa magnetică nucleară	x	x
7. Markeri imunologici	x	x
8. Studii genetice	x	-
9. Analiza cromozomială		

Fiecare stadiu poate fi împărţit in subgrupa A fără semne generale de evoliţië sau în subgrupa B cu semne generale de evoluție: febră 38"C. pierdere in greutate 10%, transpirații profuze. Semenele B sunt mai rare în limfoamele nehodgkiniene decât în boala Hodgkin şi nu au valoare pentru prognostic.

PROCEDEELE DE STADIALIZARE DUPĂ EFECTUAREA BIopSIEI PENTRU DIAGNOSTIC

După precizarca diagnosticului prin biopsie se efectuează de rutină o hemograma completa, probele de functie hepatică, probele pentru funcția renală, fosfataza" alcalină serică, radioscopia mediastinului, plămânului şi inimii.
Examinarea radioscopică şi radiografică a toracelui poate evidenția o adenopatie mediastinală bilară, o pleurezie, un infiltrat tumoral in parenchimul pulmonar.
Obişnuit indicam examinarea atentă a cavumului, a tractului gastro-intestinal eventual apelăm la endoscopie digestivă. Pentru limfoamele nehodgkiniene este esențială tomografia computerizată, subdiafragmatica. In contrast limfoangiografia este mai putin uula in diagnosticul limfoamelor nehodgkiniene in comparatie cu valoarea ei în boala Hodgkin. Valoarea ei constă în posibilitatea de a descoperi ganglioni retroperitoneali, aparent normali ca dimensiune şi care pot scăpa la examinarea cu tomografia computerizată subdiafragmatică.
Biopsia de maduvă osoasă din creasta iliacă este obligatorie, intrucat este cunoscut ca în limfoamele cu evoluție benignă, infiltratia cu celule neoplazice este prezenti in 60-80% din cazuri. Biopsia hepatică este şi ca o investigacie importantă.

Laparotomia este utilă numai pentru formele localizate ale limfoamelor nehodgkiniene aflate în stadiul I. eventual II, pentru anumite variante histologice. Ele reprezintă 20% din totalul de cazuri şi tratamentul lor de elecţie este radioterapia.
Prin urinare, procentul cel mai mare de pacienti (peste 80) se incadrează în formele diseminate de boală, respectiv stadiul II, III, IV. Recunoaşterea lor nu necesită laparotomie exploratorie, fiind suficiente biopsia ganglionară sau extraganglionară,de ficat şi măduvă osoasă, care in plus au avantajul de a fi mai puţin riscante.
Alte metode importante in stadializarea limfoamelor nehodgkiniene sunt cele care utilizează radioizotopi. Investigaţia cu Gallium" este foarte utilă în formele de limfom cu evoluţie severă sau intermediara, sau în formele benigne convertite in forme maligne. Metodele cu Gallium, astăzi perfectionate, prin folosirea unor doze mari, cu efect de impregnare tisulară prelungită, descoperă infiltratia tumorală. Ele sunt indicate in urmarirea răspunsului la tratament (diferenţierea fibrozei postiradiere de necroza din stadiul activ de boala).
Rezonanta magnetică poate fi utila in standardizarea clinică a bolii. Studiile de imunologie şi biologie moleculară: markeri imunologici pentru populatie Limfocitară B, antigenul CD 45, identificarea prin anticorpi monoclonali ai receptorului limfocitului T (TCR) pot avea importanţă pentru prognosticul bolii.
Metodele urmărire imunologică prin fenotipul celulei neoplazice sunt utile când în limfoamele nehodgkiniene se aplică o chimioterapie agresivă, urmată de aplazie şi in continuare de autotransplantul de măduvă osoasă, în care trebuie să stim care este procentul restant de celule neoplazice,
Schema de investigare şi urmărire a evoluției inferior maligne hodgkin hiene cuprinde şi etapa de analiză a anomaliilor cromozomiale precum şi metoda f modernă a analizei ADN (polymerase chain reaction = PCR).

TEHNICI CARE DETECTEAZĂ FORMELE REZIDUALE DE BOALA

Tehnica cu anticorpi monoclonali pentru antigenele de suprafata combinată cu tehnici moleculare care identifică imunoglobulinele secretate de limfocitele B sau genele pentru receptorul TCR - limfocit T pot detecta o celulă limfomatoasă care infiltrează 20 de celule normale.
Cu tehnica polimerazei care analizează ADN (PCR) se poate detecta o celula tumorală la 100 000 celule normale. Tehnica aceasta atât de fidela foloseşte celule din sangele periferic sau din măduva osoasă.
Enumerarea acestor clinici o facem pentru a realiza că astăzi putem detecta precoce boala, că se poate urmări atent tratamentul şi, ceea ce este mai important, că putem să luăm o decizie terapeutică potrivită momentului: prelungim schema de tratament, o intensilicam ca doză sau o schimbam.

EVOLUTIA NATURALA A LIMFOAMELOR MALIGNE NEHODGKINIENE ÎN FUNCŢIE DE TIPUL HISTOLOGIC

Va fi prezentată pe baza modelului propus de schema internaţională de lucru (vezi tabelul X-3).

EVOLUTIA BENIGNA
A. Limfomul difuz cu celulă mică (limfocit bine diferențiar). Se observa la pacienţii intre 40 și 70 de ani cu limfadenopatie generalizata. In hemograma numărul de leucocite este normal iar formula indică o limfocitoză moderată (60% cu numarul absolut de limfocite 4000/mm la diagnostic). Numărul normal de leucocite diferenţiază acest tip de limfom de leucemia limfatică cronică, care poate fi suspectată la primul contact cu bolnavul. Măduva osoasă este infiltrată in proportie de 75 - 95%.

În 20% din cazuri sunt prezente paraproteine, iar hipogamaglobulinemia este frecventă. Pe parcursul evolutiei sale lipomul se poate converti in leucemie limfatică cronică sau intr-un limfom difuz cu celulă mare (sindromul Richter).
Pacienţii cu sindrom Richter prezintă, pe lângă modificăcile din hemograma, mase tumorale abdominale, semne de tip B (febră, transpirații, scădere ponderala >10 %) şi au durata de supravietuire foarte scurtă.
B.Limfomul folicular cu celulă mică clivată (limfocit putin diferentiat).
Constituie tipul histologic cel mai frecvent (50% din numărul total de limfoame nehodgkiniene).
La examenul fizic pacienții prezintă limfadenopatie periferică generalizată nedureroasă: cervicala, axilară, inghinală, femurală, alături de prinderea, tipică a inelului Waldeyer, a grupului popliteal şi epitrohlear. Există o lungă perioada asimptomatică În evoluția bolii, când bolnavii, deşi constată mărirea ganglionilor, o consideră întâmplătoare.
O parte din pacienţi prezintă la prima examinare clinică mase ganglionare mari, cu sau fără fenomene compresive pe organele vitale.
Dacă aceşti pacienţi cu un limfom de tip nodular sunt urmăriţi prin anetode neinvazive, se poate demonstra caracterul diseminat al bolii cu žfectarea splici ficatului şi măduvei osoase (80-90% sunt în stadiul Il sau IVANE La examenul măduvei osoase se descrie un aspect unic de infiltraţie paratrabeculara.
Spre deosebire de limfomul difuz, determinari extraganglionare și semnele de tip B sunt rare in forma nodulară.
Evolutia bolii este foarte variabila. Unii pacienți vor fi unirii pe o perioadă de 5 ani cu adenopatii care cresc şi se reduc spontan fără a fi necesar un tratament Alni, dimpotrivă, prezintă o evoluţie, rapidă şi diseminati care impune tratament datorită măririi ganglionilor sau a altui organ. In aceste cazuri, tabloul clinic mai cuprinde: durere,obstrucția unui organ sau a căilor limfatice şi foarte rar simptome neurologice
Repetarea biopsiei în momentul generalizării bolii va indica la 60% dintre pacienti conversia" într-o formă histologică agresivă, obişnuit cu celulă mare. Prognosticul va fi rezervat, deoarece răspunsul la tratament este nefavorabil.
Tardiv,în evoluția naturală a bolii, poate apărea faza leucemică cu celula clivată sau cu limfocit mare mare.
Tratamentul nu influentează numarul de remisiuni şi nici durata perioadei de supravieţuire. Puţini pacienţi pot ajunge la remisiune completa (in stadiile neinvazive) cu un singur medicament sau cu asocieri de chimioterapice in doze agresive. Totuşi, perioada de supravietuire este lungă, pentru stadiile II și IV poate atinge 7-9 ani.
C. Limfomul folicular meu cu celulă mică clivara si celula mare. Debutal poate fi ganglionar sau extraganglionar. Infiltratii maduvei osoase este mai puţin frecventa, dar masele mari abdominale sunt obişnuite.
Evoluţia bolii este mai agresivă, doar 35% din pacienţi pot supravieţui până la 2 ani.

EVOLUTIA INTERMEDIARĂ CLINICĂ

D. Limfomul nehodgkirian folicular cu celulă mare. A mai fost denumit şi nodular histiocitar, datorită celulei mari, asemănătoare cu monocitul. Aspectul clinic este asemanător cu cel al unui limfom nehodgkinian difuz cu celul mare

Spre deosebire de celelalte variante foliculare, infiltratia măduvei si a ficatului este mai rară. Un număr mic de cazuri se pot vindeca. Reamintim că cele mai multe limfoame foliculare nu se vindecă prin tratament şi se convertesc in limfom cu, celulă mare.
E, Forma difuză cu celulă mică clivară, dar puțin diferențiată. Aspectul este ca in cazul limfocitului folicular. Pacienţii au o vârstă medie sau sunt bătrâni. In momentul, prezentării la medic, majoritatea sunt in stadiul IV cu infiltraţia splinei, ficatului şi măduvei osoase. Maduva osoasă şi

ficatul sunt infiltrate in procent de 50%. In cursul evoluției bolii sunt afectate si alte organe parenchimatoase (plămânul).
Mulți pacienți 'se prezintă pentru splenomegalie gigantă și cu o infiltrație semnificativa a măduvei. Durata de viata este mai scurtă decât la cei cu forma foliculară, nodulară, iar tratamentul polichimioterapic nu schimbă prognosticul.
F. Forma difuză cu celulă mică civată şi celula mare. Această lumoare este cel mai raspandit limfom difuz, Pacienţii sunt obişnuit femei în vârstă, cu o determinare proeminent extranodală, în special pe piele, tractul gastrointestinal şi ovar. Simptomele B sunt comune. Se aplică schemele de polichimioterapie, dar recăderile sunt frecvente.
G. Forma difuză cu celulă mare (difuz histiocitar). Pacienţii se prezintă fie cu dictionnaire ganglionară predominant cervicală şi abdominală, fie extraganglionara (tractul gastrointestinal, testicul, os, tiroid, glande salivare, piele; sistem 'nervos tral). in cursul evoluţiei bolii, rinichii, ficatul şi plărmânul pot fi- afectaţi, central). Limfomul difuz cu celula mare este foarte invaziv, cu compresie pecile acrione si vase, cu afectarea nervilor periferici şi leziuni distructive osoase. Iniţial, afectarea măduvei osoase este prezentă numai în procent de 10-20%, descoperirea citeste inna pentru că există o strânsă corelaţie cu metastazarea in sistemul nervos central. De aceea examenul lichidului cefalorahidian este obligatoriu Ja pacienții cu infiltrat al măduvei osoase. Mai târziu, în evoluția bolii o parte din. pacienti demonstrează atât o infiltratie extensivă a măduvei osoase. cât si prezenta de limfocite mari, neoplazice, circulante. Multe din aspectele clinical reflex diseminarea bolii şi sunt considerate ca fiind asociate cu imposibilitatea de a obtine remisiune completă și cu un prognostic sever. Aceste aspecte sunt;, mărimeiá maselor tumorale, infiltrarea măduvei osoase, multiple determinări extranodale, creşterca marcată a LDH (lactat dehidrogenaza) şi prezenţa simptomelor B sistemice:

LIMFOAME NEHODGKINIENE CU EVOLUŢIE SEVERĂ

H. Linfoame cu celulă mare imunoblastice. Această variantă a limfomului difuz demonstrează un aspect patologic aparte şi o evoluţie fulminantă. Această boală obisnuit se observă la adult, in jurul vârstei de 50 de ani, şi de foarte multe ori după o reacţie mediată imun sau o boală limfoproliferativă (boala celiacă, tiroidita Hashimoto, limfadenopatia angio-imunoblastică, sindromul Sjögren, febra mediteraneană, boala aglutininelor la rece sau macroglobulinemia tip Waldenström). Pacienţi prezintă anemic, limfopenie, hipergamaglobulinemie difuză cu simptome B. Cei mai multi bolnavi, čand sunt examinati pentru prima dată, sunt intr-un stadiu avansat de boală
Multi pacienti prezintă determinări extraganglionare. Invazia måduvei osoase si a sistemului nervos sunt elemente comune.

I. Limfomul difuz limfoblastic. Acest tip de limfom este foarte frecvent la copii şi mai rar la adult (reprezintă mai puțin de 5% din limfoamele nehodgkiniene ale adultului). Pacienții sunt in mod frecvent bărbați tineri care prezintă limfadenopatia cervicala, supraclaviculară, axilară (50% din pacienți) sau masă: mediastinală (50%). La cei mai mulți pacienți, masa mediastinală este situata in mediastinul anterior, este de 10 cm şi este asociată cu exsudat pleural. Mult mai rar, pacienţii prezintă determinări de boală extraganglionară (piele, testicul sau afectarea osului) Mai mult de 90% din pacienti sunt in stadiul III si IV si jumatate au simptome de tip B. Desi maduva osoasa este frecvent mormală la primul examen complet al bolnavului, pe parcursul evoluţiei 60% din pacienţi dezvoltă infiltrat medular, şi in continuare, faza leucemică, care este greu de diferenţial de leucemia acuta limfoblastică cu celula T. Pacienții cu infiltratral măduvei osoase prezintă şi o mare incidenţă a afectării sistemului nervos central
Inainte de terapia agresivă, această boală avea o evoluţie rapidă, fatala.
J: Limfomul difuz cu celulă mică neclivata. La copii, limfomul Burkitt are 2 clinice majore de prezentare: forma endemică africană şi forma americană. Forma africana prezintă determinare la nivelul obrazului cu invazia ulterioară a măduvei osoase şi a meningelor. Forma americană

evoluție predominant subdiafragmatică, cu ascita dar şi ca metastaze ază în măduva osoasă și în sistemul nervos central.
Există astăzi scheme adecvate de tratament care pot remite spectaculos manifestările bolii.
La adult limfomul Burkitt este foarte rar, fiind prezent la pacienţi până la vârsta de 35 de ani.
Forma particulară cu celulă mică, nediferenţiată, neclivată, non-Burkitt se öbservă tot la vârste tinere (până la 35 de ani), este foarte agresiv, debutează in special extraganglionar şi are aceeaşi tendinţă de a invada măduva osoasa si sistemul nervos central.

LIMFOAME NON-HODGKINIENE CU CELULĂ T

Limfoamele non-hodgkiniene cu celulă T reprezintă o proporţie mică, de 20% în grupul de limfoame non-hodgkiniene (LNH-T). Prezentam o schemă generala a limfoamelor non-hodgkiniene care are drept element de referință, localizarea predominantă şi modelul de evolutie clinic.
Limfoame non-hodgliniene cu celulă T:

- delerininare predominant centrală, foarte agresive (cu risc ridicat);
- determinare predominant periferică, indolente (cu risc scăzut):
- cu determinare periferică și centrală, moderat agresive (cu risc intermediar); procentual, sunt formele cele mai rare

Limfoame T non-hodgkiniene, foarte agresive, centrale

Clasic, pentru limfoamele T non-hodgkiniene foarte agresive, este limfomul T limfoblastic, care reprezintă una din cele mai distinctive subgrupa de LNH. In unele manuale poate fi prezentat sub denumirea de limfom Sternberg; sarcom Sternberg, asociere de nume cu determinarea mediastinală frecventă în boală. LNH-T limfoblastic reprezintă procentual 4% din tot grupul de LNH şi este mai frecvent la värste tinere, cu o incidență uşor crescută pentru sexul masculin.
Histologic: ganglionul are o arhitectură densă cu prezenţa limfoblastului T, cu nucleol bine vizibil.
Imunofenotipare: 90% din celule sunt limfoblaşti T.
-Pozitiv: TdT: Cd1, CD3, CD7.
-Negativ: CD10 - (CALLA): CD6
-Variabil: CD4; CD8
Majoritatea celulelor sunt imature (celule limfoide timice): un procent mic sunt cu aspect fenotipic de celula matură.
Citogenetică: nu există nici anomalie semnificativă.

Aspectul clinic: boinavii sunt în majoritate copii şi adulţi tineri: vârsta medie 17 - 22 ani. Ei prezintă simptome legate de masa mediastinală, adenopatie periferică. Acest limfom, in mod special, poate avea o predilecție pentru determinarea la nivelul măduvei osoase şi a sistemului nervos central. In procent mic această afectare poate fi prezentă chiar de la debutul bolii.
Majoritatea bolnavilor sunt grupati clinic in stadiul II şi IV Ann Arbor, cu semnele B de evolutie de boală.

Stadiul I este cu o singură determinare de boală supra- sau subdiafragmatică cu excepţia bolnavilor a căror unică determinare este mediastinul sau abdomenul.

In stadiul II sunt grupate cazurile cu două determinări de boală fie deasupra, fie sub diafragm, sau tumorile gastrointestinale.

Serologic: aceste forme de limfoame non-hodgkiniene T au valori foarte crescute de lactat dehidrogenaza.

Diagnosticul diferențial. Diagnosticul diferenţial intre limfomul non-hodgkin T, cụ determinare medulară si leucemia acuta limfoblastica este arbitrar. Se discută şi se innfirmă limfomul non-hodgkinian cu celula B mica, neclivata, leucemia acuta mieloblastică şi timomul.

Tratamentul trebuie rapid hotărât, deoarece deşi este histologic severă, şi boala poate progresa rapid, dacă aceşti bolnavi sunt corect tratați pot trece dintr-o grupă cu prognostic sever intr-o grupă cu prognostic bun.cu supravietuire de 5 ani la un procent de 30-40.

Tratament

La aceşti bolnavi se incearcă formele de chimioterapie din leucemia acută limfoblastică (multiple protocoale): CHOP; CHOP completat cu iradiere şi profilaxia intratecala a însământării sistemului nervos, cu limfoblaşti. Iradierea este considerată a fi a doua indicaţie, foarte bună in special în debutul égresiv mediastinal sau în determinarea serologica.

Exista in statisticile comparate internationale grupul de bolnavi, cu in prognostic excelent: bolnavii stadiul I, II, III sau stadiul IV, dar fără afectarea maduvei osoase și a SNC. La aceştia se aplică inducția cu o medicatie complexa (ciclofosfamida, Doxorubicina, vincristina. Prednisonul, L-asparaginaza: profilaxia S.N.C.) cu tratament de menținerea remisiunii cu Methotrexat şi Purinethol.

Limfomul limfoblastic T este un subtip histologic la care chimioterapia de debut poate fi completată cu liza tumorii.

Indicația de transplant medular (autolog), ca o formă de "tratament de salvare" asociat cu doze mari de chimioterapie, poate fi cu efect benefic chiar si pentru bolnavii care au la debut un prognostic sever.

Tratamentul suportiv: hiperhidratarea, tratamentul uricozuric prescris înainte de cura agresivă de chimioterapie este o indicație salvatoare şi trebuie ca medicul curant să o aibă permanent in vedere. De asemenea igiena tegumentelor si a cavităţii bucale pentru preveni suprainfecţia cu Candida albicans.

Durata de supravieţuire: medie 5 ani: se poate imbunătăți peste aceasta limita la bolnavii sub 30 de ani, cu nivele joase de LDH, fără afectarea maduvei osoase şi a S.N.C. prin aplicarea unor scheme agresive de chimioterapie.

LIMFOAMELE NON-HODGKINIENE CU EVOLUTIE PERIFERICĂ INDOLENTE

Limfoamele non-hodgkiniene cu evoluție periferică, cu evolutie clinică indolentă sunt reprezentate de mycosis fungoides şi de sindromul Sezary. In aceste limfoame proliferează predominant limfocitul T helper (CD4 +) şi determinarea clinică inițială este prezentă în epiderm.

Epidemiologie şi cauze

Aceste limfoame non-hodgkiniene au o incidentă rara in populatia generala. Există o predispoziție pentru sexul masculin 2:1. Varsta medie de debut 55 de ani. Durata de supravieţuire este de 10 ani.

Dintre agentii etiologici se amintesc expunerea la substante toxice chimice, agenţi fizici, şi expunerea profesională in industria textilă, petrochimică. La un procent din bolnavii (1%), s-á izolat virusul H.T.L.V-1, şi, recent in Italia la un grup restrâns HLTV-V. Există rapoarte despre creşterea

incidentei limfoamelor şi leucemiei la rudele de gradul unu al acestor bolnavi cu limfoame cutanate-T.

Imunologie

În majoritatea cazurilor, limfocitele exprimă fenotipul de limfocit matur helper CD3+; CD5+, CD4+.

Antigenul CD7+ prezent in 85% din limfocitele T circulante normale, prezent în celulele din mycosis fungoides este absent in celule circulante din sindromul Sézary, celulele T Sézary.

Limfocitele T din mycosis fungoides şi sindromul Sézary sunt negative pentru markeri de activare a limfocitului T care includ la antigene şi antigenul CD25 (IL-2 - receptor).

Citochimia: limfocitele sunt negative pentru peroxidază, fosfataza, alcalină şi esteraze. Granule P.A.S. - pozitive pot fi prezente intr-un număr de cazuri. Ele se corelează cu fosfataza acidă, cu esteraza, alfa-naftilacetat şi cu beta-glucuronidaza,

Citogenetica: Multiple anomalii cromozomiale sunt descrise, dar cele mai frecvent citate sunt:
- anomalii structurale ale cromozomului 1 şi 6:
- anomalii numerice ale cromozomului 7; 11, 21, 22.

Se incearcă a se face o relaţie între anomaliile cromozomiale, modul de extindere a bolii si supravieţuire.

Aspectul clinic in mycosis fungoides.
Cele mai multe cazuri debutează cu aspectul premicotic si eritematos (sau stadiu eczematoid); boala evoluează intr-un stadiu infiltrativ difuz care se transformă în stadiul final tumoral.

Stadiul premicotic sau eritematos nu este specific, el este caracterizat prin arii localizate sau mai intinse de eritem sau eczemă uscată. Leziunile ar putea fi asociate cu prurit. Aspectul histologic la biopsie este de asemenea nespecific. Nu se poate preciza diagnosticul de mycosis fungoides. Acest stadiu, poate dura luni sau chiar ani.

Stadiul următor în evoluție este denumit stadiul cu plaga, si se defineşte prin leziuni profunde, indurate, palpabile pruriginoase. Urmează stadiul tumoral cutanat caracterizat prin modificări intinse cutanate, care apar pe o leziune premicolică preexistentă sau pe portiuni normale de piele.

Leziunile se observa in special pe faţă, în regiunile unde tegumentul se plicaturează. Tumorile sunt deseori generalizate și ulcerate. În acest stadiu dispare pruritul.

O formă deosebită de evoluție este forma eritrodermică a limfomului cutanat cu limfocit T. Una din formele eritrodermice: în cursul evolutiei tegumentul prezintă un aspect exfoliativ generalizat, cu crusta, unele profunde. Cealaltă formă este o forma indurată, eritrodermică, generalizată; bolnavul are aspectul de "redman" (L'homme rouge) în care aspectul roşu predomină. Se poate face tranziţia intre cele două forme. Bolnavii au alopecie şi limfadenopatie.

In 1938, Sézary şi Bouvrain au descris un sindrom cu prurit cu eritrodermă generalizata exfoliativă şi prezența în sângele periferic a unor limfocite cu aspectul nucleului cu multe incizuri („hiperconvoluted"). Acesta este cunoscut sub numele de sindrom Sézary (leukemia cutis universalis). El are date biologice asemănătoare.cu formele clinice din mycosis fungoides.

Aspectul leucemie cu limfocite tip Sézary pot să apară şi in formele eritrodermice generalizate si in formele clasice de mycosis fungoides in stadiul de plagă, sau stadiul de tumoră. Toate formele au în final prinderea ganglionară.

In cursul evoluției bolii, celulele T maligne invadează progresiv plămânul, inima, rinichiul şi tractul intestinal. Se descriu, cu frecvență redusă: adenopatie mediastinală, hilară, leziuni litice osoase pe oasele lungi, cu fracturi patologice. Pot fi afectate corneea, sclera, glandele lacrimale, sistemul nervos central în procent de 100%.

Decesul bolnavilor cu acest tip de limfom cutanat cu limfocit T se datorează in 50% din cazuri, suprainfecţiilor cu stafilococ și pseudomonas. Este prezent tabloul toxico-septicemic sau/şi pneumonia bacteriană. Infectarea cu herpes se descrie la 10% din acest bolnavi. Un procent mare (50) pot deceda prin insulicienţă hepatică, renală datorită invaziei celulei T maligne.

Din datele de histopatologie, inițial se descrie pe biopsia cutanată un infiltrat polimorfic compatibil cu o boală benignă, necaracteristic. In acest stadiu epidermotrofic, se pot descrie microabcese Gautier formate de acumulari de limfocite cu nucleul cerebriform, care pătrund din derm în epiderm. La acest nivel epidermul prezinta parakeratoză și acantoză.

Adenopatiile, frecvent afectate in ariile cu leziuni, pot prezenta o dislocare parţială sau completă a arhitecturii şi inlocuirea ei cu limfocitele T atipice. In mulți ganglioni arhitectura este "aparent" păstrată şi infiltratul malign cu limfocit aipare în zona paracorticala. Aspectul acestor limfocite este similar cu cel descris pentru limfocitele care invadează tegumentele.

Stadializarea. Leziunile cutanate sunt incadrate după modelul T de stadializare.

Stadiul T1 plagă limitată - supravietuire > 9 ani.
Stadiul T2 - plăgi generalizate - supravieţuire > 7 ani.
Stadiul T3 - tumori cutanate - supravietuire 2,5 ani
Stadiul T5 - eritrodermie generalizată - supravieţuire 3,5 ani.

In cursul evolutiei bolii, celulele tip Sézary cresc numeric în sângele periferic pe măsură ce stadiul bolii este mai avansat. Infiltratia măduvei osoase este mai puţin depistată în cursul vieţii chiar prin biopsie de măduvă, dar este prezenta in procent de 30-40 din cazurile autopsiale.

Leziunea viscerală (ficat, splină, pleură, plămân) este de un prognostic foarte sever, durata de viaţă fiind sub 1 an de la momentul diagnosticului de limfom cutanat

Tratament
Tratamentul acestor forme comune de limfoame cutanate cu limfocite T cuprinde următoarele metode (enumerare):

- Aplicaţii cutanate cu azot-iperita (nitrogen mustard): exemplu medicamentul denumit Mustargen sau Caryolysine. Tratamentul poate dura 12 luni, Rectiile adverse sunt numeroase, dar cea mai importantă este reacția brutală alergica si posibilitatea aparitiei unui cancer cutanat.

- Psoralen: Psoralenul este un produs fotoloxic activat prin lumina ultravioleta A.

În forma activată, Psoralen afectează legăturile covalente din ADN şi astfel afectează în primul rând celule din epiderm şi din papilele dermice. Tratamentul este cunoscut sub numele de PUVA; inițial este aplicat de 3 ori pe săptămână, ulterior ca formă de intretinere, se aplică PUVA la 2 sau 4 săptămâni.

- Tratamentul cu iradiere, care pătrunde numai in derm poate fi urmat de remisiuni in 80% din cazuri.. Doza clasică este de 4 Gy pe săptămână până la o doză de 36 Gy in 8-9 săptămâni.

- Chimioterapia: azot-iperită, indicatie strict intravenoasă 0,4 mg/kg la 4-6 săptămâni, ciclofosfamidă, Clorambucil (Leukeran). Se mai poate indica Methotrexatul, Bleomicin şi Doxorubicin. Se consideră că monochimioterapia nu este suficientă şi indicaţia unei scheme compiexe de mai multe citostatice poate produce remisiuni bune la procent de 80 din bolnavi.

- Terapie de perspectivă. S-a indicat administrarea de doze mari de interferon alfa recombinat (50% rezultate bune). In alte studii s-a recomandat acidul 13 cis-retinoid (la 3 din 4 pacienți rezultatul a fost încurajator).

- Leucofereza a fost încercată uneori cu rezultate bune la bolnavii care au fost trataţi anterior cu PUVA.

Unele forme rezistente de limfoame cutanate pot răspunde la această incercare terapeutică.

- Pentostatinul şi Cladribinul au fost de asemenea indicate în formele severe, rezistente

- Anticorpii monoclonali au fost încercaţi într-un grup restrâns de bolnavi - rezultatele vor fi apreciate în timp (anticorpi monoclonali nemarcați şi anticorpul monoclonal marcat cu cod 131).

LIMFOMUL CU CELULĀ T AL ADULTULUI

.În grupul de limfoame T periferice se incadrează şi limfomul cu celulă T a adultului. Boala este produsă de infectia cu virusul leucemiei umane (H.L.T.V-1):

Epidemiologic, frecventa este crescută în Japonia şi insulele Caraibelor.

Pacienţii se prezinta la medic pentru adenopatie, hepato-splenomegalie, leziuni litice osoase, tablou leucemic. In timp apar leziuni cutanate: eritem, papule şi noduli. Celulele sunt de talie mică sau mare, cu nuclei hiperlobaţi în formă de floare sau de trifoi.

Imunofenotipare: CD2+, CD3+, CD5+ CD4+: CD25+; CD7- și foarte rar CD8+

Evolutia in timp este apreciată ca indolentă cu risc moderat.

Genetic:rearanjarea genelor T.C.R şi punerea in evidență a genomului H.LT.V.-1.

Tratamentul:CHOP (6 cure); interferonul cu rezultate modeste; imunoterapie; radioimunoterapie cu anticorpi monoclonali anti CD 25+.

Limfomul angioimunoblastic

Iniţial, descris de Lukes şi Collins in 1974, ca o reactie imuna anormala cu potential de transformare în limfom malign, prezentat ca o proliferare de graniţa între limfoproliferari benigne şi limfoproliferarile maligne. Prin analiza imunologică, imunofenotiparea beta a receptorului

limfocitului T (gena TCR) arătat că este o proliferare clonală a populației T (rearanjarea' genei beta a TCR).

Microscopic: aspect caracteristic. Vasele, sinusurile din ganglion sunt dilatate şi în interiorul lor sunt limfocite de talie mare, cu citoplasma abundentă (“imunoblaşti"). Pereții vaselor sunt îngroşat, hialinizati, P.A.S pozitivi Martorul morfologic este proliferarea vaselor mici şi absența de foliculi limfoizi.

Imunofenotipare: celule T cu CD4+
Genetic: anomalii la rearanjarea lanțurilor beta
a receptoruţui limfocitului T (T.C.R.)

Clinic: Frecvent la bolnavii vârstnici tablou clinic sever cu febra inalta (39-40°C), rash generalizat, hepatosplenomegalie. Imunologic hipergammaglobulinemia cu testul Coombs pozitiv.
Tratament: in forme comune de tratament CHOP; Prednisonul pentru bolnavi vârstnici.

Limfomul intestinal cu celule T cu sau fără enteropatii
Această variantă de limfom hon-hodgkinian are tabloulclinic de suferinta digestiva, in principal sindrom de malabsorbţie. Pacientul este palid, subponderal subfebril cu adenopatii generalizate de talie medie.

Microscopic, infiltraţia mucoasei intestinale cu celule limfoide de dimensiuni mici sau medii, mari, anaplazice.

Leziunile macroscopice sunt ulcerații la nivelul mucoasei care pot conduce la perforații.

Imunofenotipare: CD3 +; CD7 +; CD8+: CD4-; CD 103-

Tratamentul. Clorambucil (Leukeran); corticoterapie intermitenta cu rezultate bune. Tratament suportiv, cu acid folic şi vitamina B12.

Evolutie: indolentă 5-10 ani

Limfomul cu celulă T mare, anaplastică

Acest limfom inițial a fost numit: limfomul Ki-1+. El a fost identificat prin prezenţa antigenului CD30+ (Ki 1+) pe limfocitul mare. Acest antigen este obişnuit caracteristica celulei Reed-Sternberg, are populatie predominant de tip T limfocitar.

Limfomul cu celula mare T, anaplazic are două vârfuri de incidentă la 30 ani și 60 de ani, mai frecvent la bărbați decât la femei.

Clinic: adenopatii tumorale dure, cu compresie pe pachetul vasculo-nervos din vecinătate şi deseori şi determinări extraganglionare, cutanate.

Imunofenotipare: CD5-; CD25+; CD30+; Ki-1+, HLA-DR+.

Genetica: rearanjarea genelor care codifică. lanţul beta al limfocitului T (T.C.R.) Translocatie cromozomiala, la nivelul cromozomului 5 t (5:2) este frecventă.

Diagnosticul diferential uneori este dificil de făcut cu carcinomul nediferenţiat, datorită celulelor mari bizare, aspectului pleomorfic şi in plus exprimării antigenului membranei epiteliale.

Tratament: iradiere localizată, chimioterapie (o schemă indicată pentru limfoamele non-hodgkiniene).

Un procent de 40 din bolnavi pot prezenta recăderi dupa tratament. In contrast pacientii tineri in stadiul I şi II (Ann Arbor), care deseori prezintă afectarea ganglionilor şi a pielii, pot fi curabili. Acest tip de limfom KI-1 este neomogen şi uneori poate să apară ca un limfom agresiv secundar.

LEUCEMIA CU LIMFOCITE CU GRANULAȚII MARI

Limfocitele mari cu granulaţii sunt un grup heterogen de celule dependente de timus. Ele sunt limfocite cu activitate de tip N.K. (natural-Killer), şi au un rol important în reacția celulară, citotoxică dependentă de anticorp..

Leucemia cu limfocite T granuloase, are o evoluție cronică caracterizată prin limfocitoză cu măduva infiltrată, neutropenie şi infecţii recurente.

Citologic:limfocitul tipic este mare, cu citoplasma abundentă cu granulatii mari. Sunt pozitive pentru fosfataza acidă si beta-glucuronidaza.

Vârsta pacienților este în medie 60 de ani.

Imunologie: Limfocitele exprimă pan-antigene T: CD2: CD3; CD5; CD8; CD16 (FC receptor pentru IgG) CD56, CD57, antigenele limfocitului NK:

În multe cazuri, există o scădere a răspunsului la mitogenii limfocitului T. In cele mai multe cazuri testele de citotoxicitate celular mediată de anticorpi sunt pozitive; numai o mică proporție de limfocite demonstreazł o activitate NK.

Citogenetica: trisomia 8:14.

Aspecte clinice: Unul din aspectele clinice majore sunt infecțiile recurente bacteriene, anemie, oboseală. Sindromul hemoragipar este mai rar. La examenul fizic 50% din pacienţi au splenomegalie moderată, 20% au hepatomegalie şi 10% au limfoadenopatie.

In acest limfom non-hodgkinian, numărul de limfocite in sângele periferic este mai mare de 10 /dl. Limfocitoza in maduva osoasă este de 30-75%, apare o neutropenie absolută, dar valoarea hemoglobinei este moderat scazuta. In cazul seriei eritroblastice se discută în acest tip de limfom, mai multe mecanisme: dislocarea seriei eritroblastice, supresia precursorilor eritroblastici, reducerea nivelului de eritrpoietină, eritrofagocitoza şi prezenţa de autoanticorpi, care distrug hematiile in prezenta complementului.

Un aspect care merită să fie repinut este asocierea acestui tip de limfom, non hodgkinian, cu boli autoimune (artrita reumatoida, anemia hemolitică şi chiar neutropenie şi trombocitopenie imuna).

Evoluția bolii este rapid progresivă: splina creşte în dimensiuni, la fel pot apărea mase ganglionare tumorale.

Majoritatea pacienţilor nu răspund la tratamentul intensiv, în curele de chimioterapie cunoscute, şi decesul este decis de infecţii severe recunosute datorate neutropeniei absolute.

Diagnosticul diferențial. Primul diagnostic diferenţial trebuie făcut cu leucemia limfatică cronică, mai ales modul de tratament al acestor două boli este diferit, In leucemia cu limfocite mari granulare, obişnuit este absenţa afectării ganglionare, important fiind infiltratul medular, limfocitoza periferică cu un limfocit mare granular, cu aspecte imunologice descrise. Un alt diagnostic dificil este cu leucemia cu celulă păroasă. Ambele pot prezenta splenomegalie cu granulocitopenie, dar aspectele morfologice şi imunologice sunt diferite.

Tratamentul: mulți pacienți sunt tratați pentru anemie și pentru infectiile recurente.

Chimioterapia poate fi de tip monochimioterapie cu Leukeran sau Ciclofosfa mida, sau polichimioterapie cu Vincristin, Ciclofosfamidă, Prednison. In unele cazuri se încearcă splenectomia sau iradierea splinei tumorale. Există un grup de bolnavi care nu impun o chimioterapie specifică o perioadă de câțiva ani.

ENTITĂȚI NOI DE LIMFOAME NON-HODGKINIENE

În 1994, grupul international de studiu al limfoamelor a propus revizuirea clasificării existente (limfoamelor non-hodgkiniene). Acest sistem de clasificare cunoscut sub numele de „REAL" („Revised European-American Lymphoma), a fost acceptat de majoritatea grupelor de hemato-oncologie. Au fost descrise noi entităţi pe care nu le gasim in “Formula de lucru internationala".

Clasificarea REAL a fost bazată atât pe o bogată literatură de patologic şi experienta clinică a hematopatologilor.

In 1995, grupul de studiu al limfoamelor "South west", descrie şi prezintă.ca 'entităţi bine definite, două forme de limfoame indolente: limfomul celulei in manta şi limfomul zonei marginale (acesta incluzând şi ţesutul limfatic aferent mucoasei şi limfom monocitoid). Acest efort de clarificare a modelului de evoluție a limfoamelor non-hodgkiniene a continuat și astfel in 1997, se publică in Blood (vol.89), “evaluarea clinică a limfoamelor non-hodgkiniene" rezultat al unui studiu riguros realizat de „Grupul Internațional de studiu al Limfoamelor"

ln momentul actual, deşi sunt multe modificări în aceste noi clasificari, dacă le comparam cu clasificarea “familiară” din Formula de lucru Internaţională" se pot enumera următoarele observaţii utile pentru practician şi hematopatolog :

- Orice clasificare de primă etapă divide toate limfoamele non-hodgkiniene in forme cu celula B şi forme cu celula T.
- O formă frecventă este limfomul difuz, cu celula mare B, care cuprinde şi limfomul imunoblastic.
- O a doua categorie frecventă o reprezintă limfoamele foliculare (cu celula mică clivata, cu celulă mixtă clivată şi celulă mare clară şi folicular cu celulă mare).

Aceste două categorii reprezintă 50% din grupul de limfoame non-hodgkiniene.

Entități rare: limfomul B al zonei marginale (care cuprinde şi MALT), limfomul cu celulă dispusă în manta, limfomul cu celula B mică limfocitară, şi limfomul T reprezintă 5-10% din totalul limfoamelor.

Limfomul primar mediastinal cu celulă B mare, limfomul anaplastic cu celulă mare/celulă mută; limfoame Burkitt şi limfomul cu limfoblaşti de tip T reprezintă un procent de 10%.

Există un grup restrâns de limfoame in procent de 1%, care sunt foarte rare:

limfom histiocitar, limfomul anaplastic cu celule mari asemănătoare cu celule Hodgkin, limfomul Lennert.

Limfoamele non-hodgkiniene, apărute ca noi entități în clasificările recente se grupează după criteriul comun clinic, al agresivităţii evoluţiei clinice. Grupele cunoscute vor fi:

1. Limfoame non-hodgkiniene rare, indolente (cu risc redus):
   - limfomul zonei marginale splenice;
   - limfomul cu determinare extraganglionară, cu celula B care infiltrează Ţesuturile limfoide mucoase (MALT);
   - limfomul nodular monocitoid.

2. Limfoame non-hodgkiniene, rare, agresive (cu risc intermediar):
   - limfomul cu celula în manta

Limfoamele B cu celule ale zonei marginale sunt cu malignitate redusa.

In acest grup, histologic limfocitele provin din periferia folicului limfatic, se aşează interfolicular şi în sinusuri.

De reţinut un aspect morfologic deosebit pot prolifera cu aspect de limfocite, monocitoide dar şi ca plasmocite.

Limfomul marginal cu celule B se prezintă sub 3 forme:

1. proliferare extraganglionari, afectând structurile limfoide din muconse (limfomul tip MALT sau maltom).

Clinic sunt infiltrate glandele salivare, lacrimale, plămánul, tiroida si in special tractul digestiv.
De reținut d se pot asocia cu boli autoimune, sindromul Sjögren şi tiroidita Hashimoto.

2. limfomul marginal, B, cu celule monocitoide.

Boala este mai frecventa la femei și se recunoaşte ca o proliferare localizata la debut: se însoţeşte de boli autoimune.

Limfocitele B„monocitoide" cu nucleu rotund cu citoplasmă clară, abundentă, proliferează interfolicular, dar poate infiltra foliculii limfoizi, fenomen numit colonizarea foliculului.

Imunofenotipare: CDS-; CD 10- aspect important pentru recunoaştere.

3. Limfomul marginal B. splenic, uneori cu celule viloase.

Limfomul splenic cu celule viloase poate prezenta un aspect particular morfologic: limfocitele de talie medie şi mare nu nuclei neregulaţi şi se poate confunda prin aspectul citoplasmei cu leucemia cu celule paroase.

Imunofenotipare: CD5-: CD10-

Limfomul B cu celula in manta, agresiv (cu risc iniermediar) O mențiune o vom face pentru limfomul cu limfocit B în manta, cu evolutia agresivă, cu risc intermediar.

Corespunde proliferării de limfocite B, marcate imunólogic CD5+/CD23 plasate la periferia foliculului limfatic, după modelul de manta. Absenta antigenului CD23 - permite diferenţierea de limfomul cu limfocite mici.
Genetic este caracterizat prin t (11:14) expresia genei PRADI care produce ciciina D1, proteină care nu se întâlneşte normal în limfocite: prezentă în 73% din cazuri.

Această entitate a fost descrisă în 1970 de două grupe: Lennert şi colegii săi care au introdus termenul de centrocitic pentru această tumoră limfatică pe baza celulei care proliferează o celulă mică clivată a centrului germinativ, sau centrocitic. Berard şi colegii săi folosesc termenul „limfom limfatic intermediar (1978), pentru aceeaşi tumoră. In 1982 (Weisenberg D.D., Nathwani B.N., Diamond L.W., Winberg C.D., Rappaport H.) au introdus termenul de limfom al zonei de manta“. Morfologic, imunologic, genetic, studiile au confirmat realitatea tumorii a primit aceste trei denumiri.

In 1982. un grup de histopatologi au sugerat că termenul de limfom a celulei din mantaua foliculului - (mantle - cell lymphoma), poate fi adoptat, deoarece tumora are celulele care provin din foliculi limfoizi primari şi din zona de manta a foliculilor secundari. Limfomul cu celule din manta nu apare in mod special specificat in formula de lucru a ,, Institutului Naţional de Cancer El este una din noile entitati astazi unanim recunoscute. Studiile de imunohistochimie sunt foarte importante in identificarea profilului unic al limfomului cu celula din manta". Imunoglobulina de suprafaţă IgM şi untod IgD este prezentă fie, kappa fie lambda. La aceasta se adaugă pan-antigenele B cd19, Cd20, Cd22, in plus CD5+; CD43+ dar lipsesc CD10: I CD 23-. Aceasta ne permite să distingem acest tip de limfom „manta" de limfomul cu celula mică limfocitară (CD23 şi de limfomul folicular cu limfocit din centrul foliculului (CD 10+, CD43-) Genetic, există o translocație cromozomiala (11; 14) (913; 932) Prezenta in 73% din cazurile de limfom cu celule din manta şi această dată a fost un argument in plus, care a validat această entitate ca fiind distincta.

Această trinslocație înseamna că o gena bc1-1 din cromozomul 11.se uneşte cu gena pentru langul gama din cromozomul 14. Gena bc1-1 a fost investigată separat in adenoamele tiroidiene şi denumita PRADI și este studiata in contextul proteinelor ciclului celular, denumiti ciclina DL Deoarece probele nu sunt suficiente pentru punctele de rupere, „break points" ale genci bc1-1, este posibil ca acest rearanjament să fie mult mai comun decat sugereaza datele adunate. Prolela D1 ciclina nu este prezenti in ţesut limfoid normal
In Europa şi în Statele Unite incidenţa limfomului cu limfocit B'in manta este de 1-8% din totalul de limfoame-non-hodgkiniene şi tipic se observă la pacienjii care au mai mult de 55 ani, mai frecvent la bărbați. Ei deseori se prezinta intr-un stadiu avansat de boala: cu adenopatie generalizata și frecvent cu insamantarea bolii in splină, ficat, măduva osoasă, lanțul Waldeyer și alte localizări. Sângele periferic este implicat în procent mic (13-38% din cazuri, mucoasa intestinală şi submucoasa este implicată în 20% din cazuri. In general acest tip de limfom al celulei in manta este moderat agresiv ca boală şi are o medie de viață de 31-61 luni.

Citologie. Celulele sunt mononucleare cu puțină citoplasmă sau aproape deloc citoplasmă, asemănătoare celulelor blastice. Un procent de 70 din procentul de 49 prezentau nucleoli proeminenţi, 3% prezentau prelungiri ale citoplasmei, sau, alte limfocite, nu prezentau deloc citoplasmă. Foarte rar trebuie să facem diagnosticul diferential cu leucemia limfatică cu celulă păroasă.

FORME FOARTE RARE DE LIMFOAME MALIGNE - NON-HODGKINIENE

<u>Limfomul anaplastic cu celule mari asemăndınare cu celule Hodgkin.</u>

Limfomul cu celule mari, dispuse in cuiburi, in special in sinusuri; se poate confunda cu boala Hodgkin forma scleronodulară sau cu depletie limfocitara.

Imunofenotipare: CD30+/CD45+/-CD25+; EMA+/-CDIS-/+ CD3- CD43 CD45RO
Limfomul Lennert (limfom malign cu un conținut mare de histiocite-epiteloide) Acest tip de limfom a fost descris de Lennert, Westdngh (1968) ca o varianta a bolii Hodgkin.

Astăzi în „Formula de lucru este plasat in grupul de limfoame mixte cu celula mare şi mica.

Celulele care proliferează sunt tipic limfocite T cu imunofenotip de T helper.

Citogenetic: anomalie cromozomială a cromozomului 3.
Clinic, este mai frecvent la vârstnici, este ciseminat in plarmån, splina, ganglioni, măduva osoasă .Foarte agresivă este forma de debut la nivelul lanțului Waldeyer. insotit intotdeauna de semne B de boala.

Tratament: chimioterapia cu cicluri CVP şi CHOP.

Limfomul histiocitar pur
Constituie o entitate total aparte, caracterizată prin hiperplazia monocitului care prezintă un aspect curios de eritrofagocitoza. Boala poate avea un debut brutal, pancitopenie şi limfadenopatie generalizată.

LIMFOAMELE ASOCIATE CU STĀRI DE IMUNODEFICIENTA

Un număr de bolnavi cu LNH pot să apară la pacienţii imunodepresați. Aceste limfoame sunt cu celule B. de talie mare sau imunoblastica Astfel de limfoame pot să apară la pacientii care au transplant de organe (rinichi), la pacienjii cu SIDA (infectarea cu virus HIV).

Limfoamele LNH la bolnavii cu SIDA au expresie tumorală cu localizare extraganglionară, cu o evolutie foarte severă Pacienţii sunt trataţi cu chimioterapie caracteristica pentru limfom non-hodgkinian, dar apare pericolul suprainfectii cu germeni oportunişti.

LIMFOMUL MEDITERANEAN

Limfomul mediteraneean se manifestă prin diaree, malabsorbție, pierdere ponderală; citologie infiltrarea cu plasmocite şi imunoblaşti a mucoasei tractului gastrointestinal, ganglioni.

Serologic, imunoglobulinele pot fi de aspect anormal, excesul la lanturi.

Tratament: iradiere, citostatice, corticoterapie. In conduita terapeutică indicațiile sunt foarte atente, aceşti pacienți având o stare precară de sănătate, debilitate fizică importantă.

Determinări extraganglionare în limfoamele non-hodgkiniene

Sistem nervos central	Celula mare
Meninge	Limfoblast
Orbita oculara	Limfocit mic
Sinus	Celula mare
Lantul Waldeyer	Celula mare

Plaman	Celula mare, limfocit mic
Tractul gastro-intestinal	Celula mare
Testicul	Celula mare

PRINCIPII DE TRATAMENT

1. Incadrarea corectă a limfomului intr-o variantă histologică cu evolutie benigna intermediară sau severă şi stadializarea clinică în funcţie de extinderea bolii.
2. Stabilirea oportunităţii tratamentului specific antitumoral, în caz afirmativ alegerea formei adecvate de tratament; radioterapie sau chimioterapie
3. Pentru stadiile avansul se poate alege numai un tratament paliativ, simptomatic
4. Cand se optează pentru chimioterapie, schema de tratament trebuie individualizată. Se iau in considerație: terenul pacientului, reacţiile adverse la medicamente şi posibilitatea unor complicații cardiace, pulmonare, renale indepen dente de boala de bază.

Radioterapia are un rol limitat în tratamentul primar al limfoamelor ne-hodgkiniene. Este indicata de electie la pacienții in stadiul I de boală, indiferent de tipul histologic şi in stadiul II numai pentru formele cu evoluţie benignă.

Principiile de iradicre sunt cele folosite in cazul bolii Hodgkin.

Pentru pacienţii în stadiul I câmpurile de iradiere sunt dependente de tipul histologic. Dozele sunt mai mici de 3 000 cGy dar pentru formele cu evolujie severa se indica 5 000 cGy. Sc obține remisiune de 60-80% din pacienții aflati cu adevărat in stadiul I de boala

In asociere cu chimioterapia, radioterapia poate fi folosită in scop paliativ pentru formele tumorale masive.

Folosirea local a radioterapiei la pacienţii care nu pot fi vindecaţi prin acest mijloc terapeutic trebuie bine evaluata, având in vedere că la aceşti bolnavi se încearcă o iradiere totala in schema de tratament eroica" cu acoperire cu transplant de mAduvă osoasă.

Chimioterapia este folosita pentru cei mai mulţi pacienţi din stadiul II, stadiul III si stadiul IV. Optiunea pentru o forma de tratament sau alta este dictată de tipul histologic, conform schemei internaţionale de evaluare a limfoamelor non hodgkiniene (Schema de lucru").

Scheme de tratament acceptate international in limfoamele non-hodgkiniene

1. SCHEMA CHOP	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vincristin, Prednison
2. SCHEMA CNOP	Ciclofosfamida, Mitoxantrone, Vincristin, Prednison
3. SCHEMA CVP	Ciclofosfamida, Vincristin, Prednison
4. SCHEMA C-MOPP	Ciclofosfamida, Vincristin, Procarbazin, Prednison
5. SCHEMA DHAP	Dexametazona, Cisplatin, Citosin-Arabinosida
6. SCHEMA IMVP-16	Ifosfamida, Mesna, Methootrexat, Etoposide
7. SCHEMA m. BACOD	Methotrexat, Bleomicina, Doxorubicin, Ciclofosfamida, Vincristin, Dexametazona
8. SCHEMA MACOP-B	Methotrexat, Doxorubicin, Ciclofosfamida, Vincristin, Bleomicin, Prednison şi suplimentare cu Biseptol şi Ketoconazol
9. SCHEMA Bio-MACE Cyra BOM	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Etoposide, Prednison Cytosin-Arabinosida, Bleomicina, Vincristin, Methotrexat, Leucovarin
10. SCHEMA LNH-80	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vindesine, Bleomicin, Metilprednisolon, Methotrexat, Citosin-Arabinosida, L-asparaginaza, Teniposide
11. SCHEMA COPBLAM	Ciclofosfamida, Vincristin, Prednison, Bleomicina, Doxorubicina, Procarbazina
12. SCHEMA CAP-BOP	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Procarbazina, Bleomicina, Vincristin, Prednison

LIMFOAMELE CU EVOLUTIE BENIGNĂ

Sunt reprezentate de: limfomul difuz cu limfocit mic bine diferentiat, limfomul folicular cu limfocit mic clivat, limfomul folicular mixt. Potrivit opinici tradizionale, aceste tumori nu ar trebui tratate atât timp cât evoluţia lor esteindolentă (exemplu: ganglionii cresc şi se reduc spontan). Dacă s-ar aplica chimioterapia in aceste cazuri; nu s-ar obtine o perioadă de supraviețuire mai mare comparativ cu bolnavii-netratati. Odată luată decizia de chimioterapie se poate recurge la un singur agent (exemplu: ciclofosfamidă sau Clorambucil) sau la o asociere de citostatice alkilant (CVP seu CHOP). Scheme de tratament mai agresive ar putea induce remisiune completă într-un procent mai mare; cu toate acestea, durata de supravieţuire nu este influenţată.

Recent s-a încercat tratarea formelor cu evoluție benignă într-un mod mai complex, care include doze agresive de citostatice şi iradiere totală urmate de autotransplantul de măduvă osoasă. Studiile au arătat că este posibil să sé obțină reinisiuni complete la 80% din pacienți. Eforturile terapeutice sunt completate prin introducerea în schema de tratament limfoamelor cu evoluție benignă a interferonului a în dorinţa de a suprima clona de celulă rezistentă, obținându-se remisiune completă de lungă durată la 30% din pacienţi.

Limfoamele cu evoluţie indolentă îşi pot modifica brusc tabloul clinic: cresc rapid masele tumorale existente şi apar noi determinări. In acest moment este indicată reevaluarea histolitică prin biopsie şi schimbarea tratamentului chimio rapid, în cazul conversiei într-o formă histologică agresivă.

LIMFOAMELE CU EVOLUȚIE INTERMEDIARĂ

Limfomul folicular cu celulă mare, limfomul difuz cu celulă clivată, limfomul difuz cu celulă mică clivată şi celulă mare, limfomul difuz cu celula mare se încadrează în aceeaşi schemă de tratament cu citostatice. Tratamentul in limfomul difuz cu celulă mare are cel mai mare succes din toata chimioterapia modernă.

Aceste tumori au fost inițial tratate cu un singur agent, ulterior cu schme CVP.

Această schemă de tratament induce remisiunea la cei mai multi pacienti, dar prelungirea duratei de viață a fost observată in putine cazuri. Prima formă de chimioterapie urmată de succes a fost CHOP, în care s-au obţinut remisiuni complete in 50% din cazuri şi o prelungire a duratei de viață la mai mult de jumătate din pacienţi.

In ultimii 15 ani schemele de chimioterapie s-au imbunătățit, au fost introduse noi citostatice: Bleomicina, Methotrexat, Procarbazină, nitrogen-mustard-Citozinarabinozid şi etopozidul (BACOD, m-AMCOD). (Pro MACE-HOOP), COP-BLAM. COMLA (Pro MACE-cyta BOM, MACOP-B). Pe lângă complexitatea tratamentului, durata lui s-a prelungit la 12 luni. Cu aceste forme agresive de tratament s-au obtinut remisiuni complete la 80% din pacienți. In paralel a crescut toxicitatea acestor citostatice (infectii, complicații cardiace, pulmonare). Pacienţii care timp de 2 ani nu au semne de boală activa, au şansă excelentă de a fi vindecaţi. Mentinerea unei forme de tratament de întreţinere nu a prelungit supravieţuirea. Alegerea schemei de tratament pentru limfomul difuz cu celula mare, in dorinja obţinerii unci.remisiuni complete, sau a unei supravietuiri cât mai lungi, este o opţione liberă a medicului terapeut in functie de experienţa lui.

Formule modulare ale LN, atat cele mixte cât şi cele cu limfocit mare, au fost tratate cu schema CHOP, cu un număr mare de remisiuni complete şi o supravieţuire pentru perioade lungi de timp, fără semne de boala, Surprinzător, limfomul difuz cu celulă mică clivata, tratat cu schemele cele mai agresive, nu a putut fi vindecat. Remisiunile se obțin rapid in aceste cazuri, dar sunt de scurta durata.

LIMFOAMELE NEHODGKINIENE CU EVOLUȚIE SEVERA

Tot acest grup are un prognostic foarte rezervat i necesită o terapie agresiva.

Limfomul limfoblastic şi limfoniul cu celulă nică neclivată, nedifcrenjiata, au fost tratate cu scheme mult mai agresive decat limfomul cu celula mare. Remisiunilc complete se poT obține rapid, dar posibilitatca de vindecare este mult mai mica decat in limfomul difuz cu celula mare. Grupele cu prognostic bun wu anumite ciemente Care sugerează acest aspect: maduva osoasa nu este infiltrath, iar valoarea iactic dehidrogenazei este mica. Dacă exista dovada infilurini SNC, tratamentul intratecal şi radioterapia trebuie administrate.
LIMFOAMELE ASOCIATE CU SIDA

Aceste tumori sunt dintre cele mai agresive forme ale limfoamelor ne-hodgkiniene.

Cele mai multe se prezintă sub forma limfomului difuz cu celulă mare, cu evoluţie intermediară. Un procent mic sunt limfoame B, cu grad sever de evoluție.

Numărul acestor tumori este astăzi în creştere, şi răspunsul lor la tratament ca şi prognosticul sunt radical diferite ducă le comparăm cu limfoamele cu acelaşi aspect histologic, dar care nu au nici o legătură cu SIDA. Formele de tratament agresive induc remisiuni complete numai in 25% din cazuri, iar vindecarea in foarte puține cazuri, poate chiar deloc.

La acest grup de pacienţi se indică tratamentul chimioterapic, cronic, de salvare, completat cu transplantul de măduvă osoasă în cazul aplaziei medulare.

CHIMIOTERAPIA DE SALVARE

Este indicata in cazurile în care nu se poate objine remisiune completă cu polichimioterapia obişnuită, sau durata de supravietuire a pacientului este foarte scurtă. Se folosesc in doze mari Ifosfamida, Etopozida (VP-16) şi cisplatinul.
Aproximativ 1/3 din pacienți ajung la remisiuni complete şi altă 1/3 la remisiune parțial, ambele remisiuni sunt de scurtă durată şi supravieţuirea este mai mică de 2 ani.

TRANSPLANTUL DE MĂDUVĂ OSOASĂ

Transplantul cu măduvă heterologă sau autologa este indicat la grupul de pacienţi pană la 50 de ani, la care s-a aplicat o chimioterapie agresivă, eventual combinată cu iradierea şi s-a ajuns la mielosupresie (hipoplazie medulara). Bolnavii cu limfoame nehodgkiniene, refractare terapeutic, pot beneficia de transplantul de măduvă osoasă, in sensul creşterii cu 20% a perioadei de supravietuire. La 40% din pacienti, a căror boală incă mai råspunde la tratament, folosind transplantul de maduva osoasa asociat cu o terapie agresiva, se obţine o remisiune lunga.
Cu tot succesul acestei metode, există un risc de 10% de deces in cursul tratamentului, datorita infectiilor bacteriene sau virale, a accidentelor hemoragice sau a unui stop cardiac. Pentru eficacitatea aplicarii transplantului medular la pacienţii cu limfom nehodgkinian, pe lângă vârsta până la 50 de ani, trebuie ales momentul optim de transplant, sursa de măduvă osoasă şi eventual, în cazul măduvei osoase autologe, tratarea ei pentru a-i îmbunătăți performanța.

MODALITĂȚI MAI NOI DE TRATAMENT

De 10 ani s-a încercat tratamentul cu anticorpi monoclonali faza de antigenele celulei tumorale. Rezultate încurajatoare s-au obținut la început pe limfoamele B - foliculare, care îşi exprimă cel mai bine antigenul (idiotipul). Astăzi, anticorpi monoclonali pentru sunt folosiți cu factori solubili (citokine), care sunt potențial tocixi celule tumorale. Citokinele includ interferonul, factorul de necroză tumorală interleukina-2 (IL-2). Sunt de asemenea testati factorii stimulatori de creştere ai coloniilor mieloide, eritroide, limfoide. Conceptual, aceşti factori de creştere, hormoni de creştere hematopoietici, sunt glicoproteine, limitează mielosupresia, permițând doze mari de citostatice şi repetări la intervale scurte a curelor de chimioterapie.

Sunt folositi factori stimulatori de creştere pentru seria granulocitară (G-CSF) și pentru monocite (GM-CSF). Indiferent de grupul de oncologi, eforturile se concentrează pentru cunoaşterea operaţiilor moleculare din clonele maligne în scopul introducerii unui tratament cât mai specific.

Schemele de citostatice folosite in tratamentul limfoamelor maligne

Schema	Doza	Ziua de tratament
CVP (repetată la 21 zile)		1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
C= ciclofosfamida	400 mg/m²/p.o.	x x x x
V = vincristin	1,4 mg/m²/i.v.	x
P = prednison	100 mg/m²/p.o.	x x x x x x x x x x x x x x x
C-MOPP (repetată la fiecare 21 zile)		
C = ciclosfamida	650 mg/m²/i.v.	x x
O = oncovin (vincristin)	1.4 mg/m²/i.v.	x x
P = procarbazina	100 mg/m²/p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
P = prednison	40 mg/m²/p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
CHOP (repetată la fiecare 21 zile)		
C = ciclofosfamida	750 mg/m²/i.v.	x
H = adriamicina (doxorubicina)	50 mg/m²/i.v.	x
O = oncovin (vincristin)	1,4 mg/m²/i.v.	x
P = prednison	100 mg/m²/i.v.	x x x x x

Scheme de tratament cu citostatice in limfoamele maligne nehodkiniene cu evolutie severa

Regim	*Doză*	*Zile de tratament*
m. BACOD (repetat la fiecare 21 de zile)		
m = methotrexat (urmat de acid folic)	200 mg/m² i.v.	În ziua a 6-a şi ziua a 15-a
B = bleomicin		
A = adriamicin (doxorubicin)	4 mg/m² i.v.	1
C = ciclofosfamidă	45 mg/m² i.v.	1
O = oncovin (vincristin)	600 mg/m² i.v.	1
D = dexametazon	1,4 mg/m² i.v.	1
PRO MACE - Cyta BOM (repetat la fiecare 21 de zile)	6 mg/m² p.o.	1-5
Pro = prednison	60 mg/m² p.o.	1-14 zile
M = methorexat	120 mg/m² i.v.	1
A = adriablastin	25 mg/m² i.v.	1
C = ciclofosfamidă	650 mg/m² i.v.	1
E = etoposide (VP-16)	120 mg/m² i.v.	1
Cyta = Cytosar (citarabina)	300 mg/m² i.v.	8
B = bleomicin	5 mg/m² i.v.	8
O = oncovin (vincristin)	1,4 mg/m² i.v.	8
O = methotrexat (cu acid folic sau leucovorin)	120 mg/m² i.v.	8

Scheme de tratament cu citostatice in limfoamele maligne non-hodkiniene cu evolutie severa

Regim	*Doză*	*Zile de tratament*
MACOP-B (o schemă la 12 săptămâni)		
M = methotrexat (urmat de acid folic sau leucovorin)	400 mg/m² i.v.	6, 36, 64
A = adriamicin (doxorubicin)	50 mg/m² i.v.	1, 15, 29, 43, 57, 71
C = ciclofosfamidă	350 mg/m² i.v.	1, 15, 29, 43, 57, 71
O = oncovin (vincristin)	1,5 mg/m² i.v. maximum 2 mg/m² i.v.	8, 22, 36, 50, 64, 78
P = prednison	75 mg/m² p.o.	1-84
B = bleomicin (bleoxan)	10 mg/m² i.v.	22-50

BOALA HODGKIN

Definitie: Boala Hodgkin este o proliferare malignă, clonală, a celulelor din sistemul imun.

Epidemiologie: Uneori, boala Hodgkin poate avea o incidentă crescută in colectivităţi şcolare, familiale sau în anumite zone geografice.

Etiologie: Cauza bolii Hodgkin rămâne, încă, necunoscută. Se poate afirma că există o susceptibilitate genetică, că ar exista o relație între aceasta şi anumite antigene HLA (HLA B8).

In aproximativ jumătate din cazuri, astăzi se descie un cariotip cromozomial anormal, dar nici una dintre anomaliile acestea nu sunt suficient de frecvente pentru a fi patognomonice. Există un defect imunologic atât la pacienţii trataţi cât şi la cei 3 netratati.

Se afirmă că este posibil să fie indus de un retrovirus, dar această afirmatie nu este susținută de numeroasele cercetări făcute până în prezent Virusul Epstein Barr este prezent în procent de 20 - 80 la bolnavii cu boala Hodgkin.fr Boala Hodgkin ar mai putea recunoaşte ca factori etiologici o expunere la un factor profesional, cum ar fi praful de lemn de tâmplărie, sau chiar unele substante chimice.

PATOLOGIE

Diagnosticul de boală Hodgkin se bazează pe recunoaşterea pe preparatele histologice a celulei Reed-Sternberg, sau a unor celule asemănătoare cu aceasta

Celula Reed Sternberg este o celulă de talie mare, aproximativ 15-25 μ cu nucleul bi- sau trilobat, cu nucleoli foarte bine vizibili, numiţ și ,ochi de bufniță".

Pe preparatele histologice se mai descriu, în jurul acestei celule caracteristice pentru boala Hodgkin şi celule normale reactive: limfocite, plasmocite, fibroblasti, eozinofile.

Celula mare asemănătoare.cu celula Reed-Sternberg poate fi descrisă şi in alte conditii: limfom malign cu celulă mare, mononucleoza infectioasă, infecția cu virusul citomegalic.

Celula de origine

Originea celulei neoplazice Reed-Sternberg este controversată (vezi fig. 10.7).

In toate subtipurile histologice, celula Reed-Sternberg exprimă antigene pe care le găsim în limfocitele în repaus cât şi în cele activate. Acestea includ: CD30, CD 15, CD70. HLA-DR, Ki-27, CD40 şi CD25.

Fenotipul celulei Reed-Sternberg cuprinde şi CD 15 marker pentru seria granulocitara) sau CD45 (antigen comun in seria leucocitara).

Cele mai caracteristice antigen sunt: CD15 şi CD30, Ki-27; CD70, CD40 şi CD25.

Astfel, celula Reed-Sternberg ar putea avea la origine limfocitul T sau limfocitul B şi, în cazuri rare, celula de tip monocit. Originca monocitară este suspinută de prezenţa imunoglobulinelor in citoplasma unor celule Reed-Sternberg, care au ajuns aici printr-un proces de fagocitoza. Este posibil ca in boala Hodgkin originea celulei sa difere în funcţie de variabile subtipuri de boala.

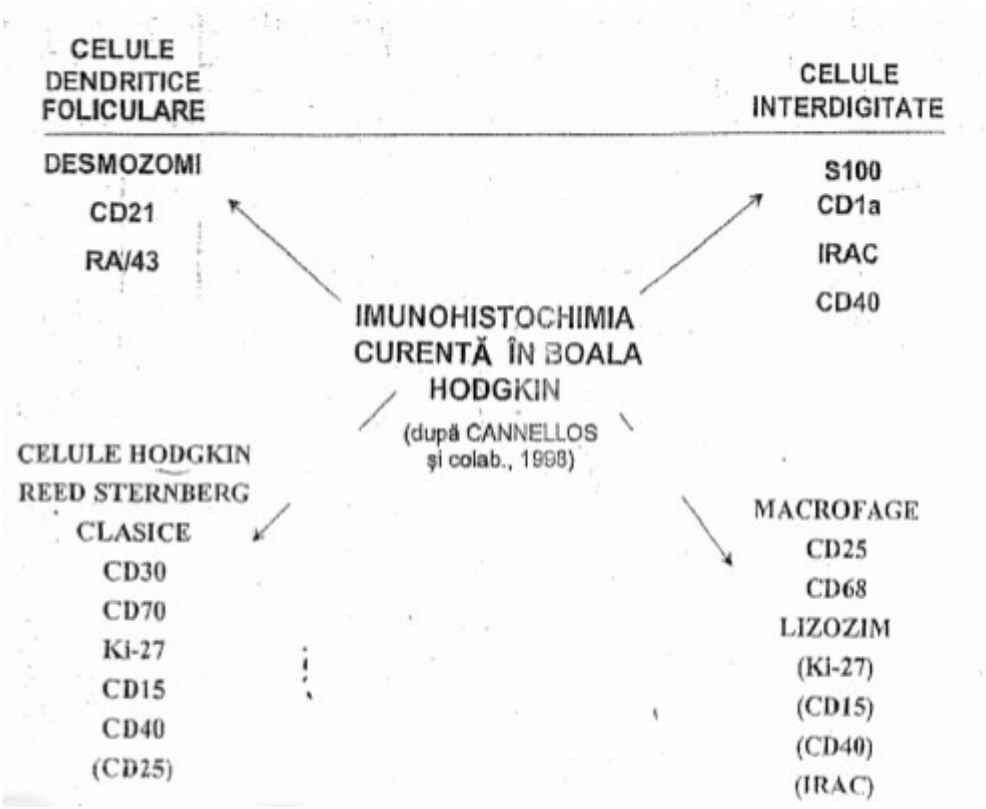
Aspectele patologice ale bolii Hodgkin

Boala Hodgkin este impărțită în patru forme clasice histopatologice: forma bogat limfocitara, forma nodular-sclerozantă, forma mixtă celulară şi forma sărac limfocitară (clasificarca Rye, 1966) (vezi tabelul X-11).

FORME HISTOPATOLOGICE CLASICE ALE BOLII HODKIN

- **Forma predominant limfocitara**
- **Forma cu scleroza nodulara**
- **Forma cu depletie limfocitara**
- **Forma mixta**

IMUNOHISTOCHIMIA CURENTA IN BOALA HODKIN



Clasificarea histopatologica a bolii Hodkin (clasificarea Rye)

Tipul histopatologic	Incidenta	Celule R-S	Alte aspecte	Prognostic
Forma bogat limfocitara	2-10	rare	predomina limfocitele cu aspect morfologic normal	excelent
Forma cu scleroza nodulara	40-80	frecvente “lacune”	noduli limfoizi separati prin benzi de colagen	foarte bun
Forma cu celularitate mixta	20-40	numeroase	infiltrat cu limfocite, eozinofile, plasmocite	bun
Forma sarac limfocitara	2-15	numeroase uneori bizare	foarte putin limfocite, rare eozinofile, plasmocite, fibroza	sever

*Forma nodulara sclerozanta este cea mai frecventă. Aceasta, împreună cu forma mixtă celulară, reprezinta 80% din cazurile de boală Hodgkin.

* Forma mixta celulară este tipul histopatologic predominant la pacienții cu sindromul de imunodeficienta la care apare boala Hodgkin.

* Forma sărac limfocitară este cea mai rară şi este posibil ca o proportie mare din aceşti pacienți să aibe, de fapt, o formă de limfom malign cu celulă mare.

Rolul principal al anatomopatologului este de a distinge boala Hodgkin de alte proliferări maligne.

Biopsiile trebuie realizate din ganglioni sau din orice tesut care poate fi afectat de boală şi abordat pentru biopsie. Numărul de secțiuni dintr-un tesut trebuie să fie cât mai mare, pentru a recunoaşte celula Reed Sternberg (R-S).

ASPECTE CLINICE ALE BOLII HODGKIN ŞI DATELE DE LABORATOR

Distribuţia bolii în funcţie de vârstă cunoaşte două varfuri: omul intre 15-22 ani şi al doilea intre 40-50 ani.

Astfel, spre deosebire de limfoamele nehodgkiniene, boala Hodgkin afecteaza bolnavi mai tineri, fiind semnalate cazuri cu debut chiar In copilarie.
Iniţial, boala se manifesta intr-o formă localizata, in marea majoritate a cazurilor. Ulterior, tabloul clinic este completat prin afectarea unor noi organe. Astfel, debutul poate fi ganglionar sau extraganglionar (ficat, splina stomac, maduva osoasa) cu sau fara semne generale legate de evolutia bolii.

Cånd debitul este ganglionar superficial, la examenul fizic se constata, in majoritatea cazurilor. ganglionii grupaji cu consistenta crescuta, chiar duri, nedureroşi, de dimensiuni medii sau mari, de formând regiunea respectivă

Adenopatia latero-cervicală şi supraclaviculara este prezenta la 60-70% din bolnavi.

La un procent de 30% poate debuta cu o adenopatie mediastinală sau hilară. Aceasta se descoperă prin examenul de rutină, radiografia cardiopulmonara.

Această modalitate de debut arată că posibilitatea de evoluţie este axială în contrast cu limfoamele nebodgkiniene care au evoluţie centrifugă cu prinderea ganglionilor epitrohleari şi ai inelului Waldeyer.
In cazurile cu debut ganglionar abdominal, se citează prinderea primitiva a ganglionilor paraaortici, mezenterici şi din hilul hepatic sau splenic.

In cazul determinarii primitive extraganglionare, localizările posibile sunt: splina, ficatul pleura pericardul măduva osoasă.

O altă formă de debut, mult mai zgomotoasă clinic, este aceea in care există semnele majore de evoluţie a bolii: febră inaltă (38-39°C), pierdere ponderala, transpiratii profuze. Procentul acestor bolnavi este de 25-40 Febra este ondulantă (Pel-Ebstein), poate dura câteva săptămâni, fiind urmată de perioade de afebrilitate. Febra şi transpirațiile sunt semne de debut, mai frecvente la pacienţii vârstnici sau la cei cu boala avansati, in stadiul III sau IV.

Un procent de 10% din bolnavi pot prezenta la debut prurit, iar 2-5% diatre bolnavi reprezinta semnul durerii ganglionare precoce la ingestia de alcool

Alte forme rare de debut in boala Hodgkin sunt: tusea in chinte repetate, durere toracică, dispnee, osteoartropatia hipertrofică, dureri osoase rezistente la antialgice. leziuni neurologice severe de ipul compresiunii medulare, sindrom de venă cavă superioară

Formel foarte rare de debut sunt citate in special în boala Hodgkin cu debut extraganglionar: cefalee, tulburări de vedere - la bolnavii cu determinare primitivă intracraniană sau tulburări de tranzit, perforaţii, subocluzii intestinale - la cei cu determinare primitivă la nivelul tractului gastro-intestinal.

Date de laborator Hemograma, viteza de sedimentare a hematiilor, probele renale sunt examene de rutina efectuate şi în cazul bolnavilor cu boala Hodgkin.

Se descrie prezenta unei anemii moderate, normocrome cu sideremie scăzuta şi cu capacitate crescută de legare a siderofilinei. Numarul de leucocite este usor crescut cu deviere la stânga, cu o moderată reacție leucemoida, care dispare după tratament. O eozinofilie moderată apare mai ales la pacienţii cu prurit. Este posibili creşterea numărului de monocite. Un numar scăzut de limfocite, limfopenie absolut (mai puțin de 1 000 limfocite/mm'), este prezent la bolnavii cu forma avansata de boala. Trombocitoza este moderata.

Viteza de sedimentare a hematiilor, la majoritatea pacienţilor, este crescută şi poate fi considerata cel mai bun test de urmărire în timp a evoluţiei bolii. Trebuie menţionat că, uneori, viteza de sedimentare boala nu a fost complet vindecată şi există poate reveni la normal, chiar atunci când zone active ganglionare și extraganglionare. Alte anomalii de laborator sunt: creşterea fracţiei alfa2 a globulinelor (din electroforeza proteinelor), nivelului seric al cuprului, calciului, acidului lactic, lactic dehidrogenazei, fosfatazei alcaline serice, a (enzimă prezentă in monocite), a gamaglobulinelor, a proteinei C reactive.

ANOMALII IMUNOLOGICE

In boala Hodgkin se descriu anomalii imunologice, insuficient explicate la data actuală. Astfel, este cunoscută deficienta imunităţii mediate celular caracterizată prin testul cutanat la tuberculină

negativ. Este descrisă o inversiune a raportului T4/T8. Astfel anergia ar fi explicată de creşterea numărului de celule supresoare şi scăderea numarului de celule helper.

Pe lângă anergie şi alte teste ale funcției celulelor T sunt modificate: de exemplu, răspunsul la mitogeni (fitohemaglutinina).

Imunitatea umorală cu producţia de anticorpi la antigene solubile este normală chiar la pacienţii netrataţi (exemplul clasic: răspunsul la antigenele din pneumococ cu formarea de anticorpi). Răsunetul clinic al acestor defecte imun este limitat; bolnavii pot avea o incidentă crescută a zonei zoster. Foarte rar se citează cazuri de anemie hemolitică autoimună cu test Coombs pozitiv.

DIAGNOSTICUL DIFERENTIAL LA DEBUTUL BOLII

Trebuie să excludem alte boli neoplazice: limfoamele nehodgkiniene, cancerul nazo-faringian, cancerul tiroidian.

Deşi în ganglionii supraclaviculari drenează atât căile limfatice din torace cât şi cele din abdomen, ganglionii din fosa supraclaviculară stângă sunt mai frecvent asociaţi cu afecţiuni abdominale, iar ganglionii din fosa supraclaviculară dreaptă cu afectiuni intratoracice. Adenopatia axilară trebuie diferențiată de limfoamele nehodgkiniene şi de metastazele cancerului mamar.

In cazul adenopatiei mediastinale trebuie excluse procesele infectioase (de exemplu: cele bacilare), sarcoidoză şi tumorile mediastinale,.

La pacienți în vârstă, adenopatia mediastinală va fi diferențiată de tumori pulmonare, in mod deosebit de carcinomul epidermoid sau carcinomul pulmonar cu celulă mică. Tot în diagnosticul diferențial al evoluției mediastinale trebuie să intre si mediastinita reactivă şi adenopatia hilară din histoplasmoză.

In debutul ganglionar, subdiafragmatic, când adenopatia este asociată cu hepatome galia şi splenomegalia, diagnosticul diferential se face în primul rând cu limfomul nehodgkinian şi alte neoplazii, spre exemplu, cancerul gastric cu multiple metastaze.

Forma rară de debut la nivelul seroaselor: pleură, pericard obişnuit, asociată cu semne generale de boală, este diferențiată dificil de alte boli infectioase,neoplazii primitive sau boli de colagen.

CĂILE DE EXTENSIE

Càile de extensie cele mai frecvente in boala Hodgkin sunt canalele limfatice (invazie ganglionară prin contiguitate din aproape aproape) sau mai rar, se poate produce extensia prin canalul toracic retrograd de la ganglionii supraclaviculari la cei paraaortici..

Căile limfatice pot să fie căi de extindere a boli de la ganglionii retroperitoneali la piele.

Altă cale de extindere este cea hematogenă: afectarea pe cale hematogenă, a splinei şi ficatului de la ganglionii paraaortici. Aceeaşi cale hematogenă poate avea si o directie inversa, de la o determinare primară splenică la ganglionii paraaortici.

Parenchimul pulmonar pare să fie afectat ca o consecinţă a unei invazii directe din ganglionii hilari sau mediastinali. Calea hematogenă poate însămânța măduva osoasă sau ficatul cu punctul de plecare - ganglionii şi splina. Există posibilitatea controversată ca modul de extensie a bolii să depindă de tipul histopatologic.

STADIALIZAREA CLINICĂ A BOLII

Pentru o perioadă de 20 de ani, clasificarea clinică de la Ann Arbor a fost folosită pentru stabilirea atitudinii terapeutice. Prin această clasificare se încearcă „distingerea"
pacienților la care, indicaţia terapeutică cca mai bună este iradierea cu megavoltaje (pe o suprafață cât mai întinsă), de grupul de pacienţi care necesită o chimioterapie sistemică.

Acest sistem de stadializare este în esență anatomic, deoarece se iau în considerare determinările bolii în raport cu diafragmul.

Astăzi sistemul clasic a fost revizuit. Prin folosirea noilor metode de investigare a pacientului (tomografie computerizată, rezonanță magnetică nucleară) se poate aprecia chiar mărimea tumorii. Astfel, se poate determina mărimea masei ganglionare mediastinale care, dacă depăşeşte cu 1/3 diametrul toracic, este un semn de prognostic sever. Se pot recunoaşte mase tumorale unice, cu un diametru mai mare de 10 cm. Noua stadializare clinica Cot Swolds este prezentată în tabelul X-12.

Stadializarea bolii Hodgkin (Cot Swolds)

clasificare	***descriere***
Stadiul I	~Afectarea unui singur ganglion sau a unei singure structuri limfoide ~Afectarea a doi sau mai mulți ganglioni de aceeaşi parte a diafragmului (mediastinul este considerat o singură localizare, ganglionii hilari sunt considerati bilateral, două localizări).
Stadiul II	Numărul de localizări anatomice admise pot fi indicate printr-o subscriptie numerică de tip! (II3).
Stadiul III	Afectarea ganglionilor sau a structurilor limfoide de ambele părți diafragmului
● **III 1**	Cu sau fără afectare splenica, hilară, celiacă sau a ganglionilor portali
● **III 2**	~Cu afectarea ganglionilor paraaortici, iliaci, mezenterici ~Afectarea ganglionilor sau a structurilor limfoide de ambele părți ale diafragmului cu determinare obligatorie şi extraganglionară (măduvă osoasă, ficat, multiple metastaze pulmonare)
Stadiul IV	Afectarea unuia sau a doua organe care nu sunt limfoide: ficat, măduva osoasă, pleura, pericard

Subdivizarea stadiului III in stadiile III1 si III2 nu este foarte important pentru ca ambele subtipuri au un prognostic similar, daca tratamentul include chimioterapia.

Prezenta semnelor de suferinţă sistemică, a semnelor generale de boală sunt desemnate prin litera B şi absența lor, prin litera A.

Deci A = absenţa semnelor generale de boala.
B febra 38"C, transpiratii profuze nocturne, pierdere ponderală mai mult de 10% din greutatea corporală în ultimele 6 luni.

De asemenea, in stadializarea clinică a bolii Hodgkin se mai foloseşte litera E, prin care se desemnează localizarea extraganglionară a bolii, prin contiguitate sau intr-o pozitie proximală tată de ganglionul afectat şi biopsiat.

Trebuie menţionat că afectarea măduvei osoase poate fi primitivă.- boala Hodgkin cu debut la nivelul măduvei osoase - şi în acest caz se foloseste litera E. Altfel, in stadiul IV de evolutie a bolii este obligatorie metastaza medulară.

METODE DE DIAGNOSTIC ŞI DE STADIALIZARE

Diagnosticul bolii Hodgkin cuprinde: etapa de diagnostic clinic, diagnosticul histopatologic şi etapa de stadializare a bolii.

Diagnosticul de boală Hodgkin este susținut numai de examenul histopatologic. Acesta necesită uneori multiple secțiuni din organul afectat, cel mai des ganglionul.
In multe cazuri este necesar ca secțiunile histologice să fie făcute din tot ganglionul excizat, explicația fiind dată de faptul că celula Reed-Sternberg, in majoritatea cazurilor este foarte rara pe sectiuni Nu are valoare diagnosticul de boală Hodgkin pus numai pe examinarea punctiei ganglionare.

Dacă diagnosticul este incert este necesară repetarea punctiei şi biopsiei ganglionare. Există, însă, numeroase erori in diagnosticul histopatologic şi clinic al bolii Hodgkin.

A. Erori posibile in diagnosticul histopatologic al bolii Hodgkin:

1. Sunt prezente la examenul histopatologic celule mononucleare asemănătoare cu celulele Reed- Sternberg (este greu de delimitat, în acest caz, fără alte aspecte caracteristice, boala Hodgkin clasică, de boala Hodgkin bogat limfocitară, de caracteristice, bua limfomul anaplastic cu celulă mare, de limfomul B cu celula mare, cu punţi de fibroză cu celulă mare sau de carcinomul anaplastic).

2. Secțiunile nu sunt bine executate şi nu permit o examinare şi o interpretare corecta (fixarea tesutului nu a fost buna, secțiunile sunt groase)

B. Situații în care diagnosticul clinic de boală Hodgkin este dificil de afirmat:

- localizari rare ale bolii (tiroidă, os, tract gastrointestinal, amigdala, piele);
-model rar de extindere a bolii fără respectarea continuităţii (prezent doar în 10-15% din cazurile de boală Hodgkin);
-debut subdiafragmatic (posibil doar în 15% din cazuri):
-pacienții vârstnici (la aceştia fiind mai frecvente limfoamele nehodgkiniene).

Stadializarea bolii Hodgkin. Este foarte importantă pentru schema de tratament, pentru prognosticul bolii. Această evaluare pretratament cuprinde o anamneză atentă şi repetată, un examen fizic minuţios, cu atenţie pentru toate ariile ganglionare şi pentru abdomen şi retinerea din anamneză a semnelor B de evoluţie a bolii.

Markeri Boala Hodgkin

Marker	Limfom cu celulă B bogată în celule T	Boală Hodgkin predominant limfocitară	Boală Hodgkin scleronodulară, mixtă I cu depletie limfocitară	Boală Hodgkin clasică bogat limfocitară	Limfom anaplastic cu celulă mare
CD30	-(+)	-	+	+	+
CD70	-(+)	-(+)	+	+	-+
CD15	-	-	+(-)	+(-)	-+
EMA	+-	+-	-(+)	-	+-
CD20	+	+	-+	-+	-
CD79a	+	+	-+	-+	-
Lanturi J`	+	+	-	-	-
CD3	-	-	-+	-+	+-
TCR-β	-	-	-+	-+	+-

(după Cannellos şi colab., 1998)

Examinari radiologice: radioscopia, radiografia toracică convenționala: se poate descrie prezența adenopatiei mediastinale şi hilare - mai rar cu aspect policiclic.
Dacă această afectare este prezentă, atunci este indicată tomografia computerizată mediastinală.
Examinarea cu ecograful a regiunii subdiafragmatice aduce putine date: descoperă doar hepato-splenomegalia şi eventuale mase ganglionare paraaortice mari.

Limfografia bipedală rămâne valoroasă în descoperirea ganglionilor paraaortici şi iliaci

Explorări hematologice: hemograma completă cu formula leucocitară, determinarea vitezei de sedimentare a hematiilor (VSH). puncţie şi biopsie de măduvă osoasă efectuată in creasta iliacă.

Explorări biochimice: teste pentru funcţia hepatică, electroforeza lactic dehidrogenaza serică (LDH), calcemia, calciuria.

Procedee de investigații când până la această etapa diagnosticul de boală Hodgkin nu este sigur:
-laparotomia;
- ultrasonografia;
-rezonanţa magnetică nucleară;
- scintigrama cu Ga57;
- scintigrafia cu Tc99 :
-scintigrafia ficat-splină.

Tomografia computerizată este importantă pentru stadializarea bolii Hodgkin,aceasta aducând date în plus pentru a aprecia masa tumorală sau a evidentia mase tumorale ce nu pot fi decelate la un examen obişnuit (de exemplu - adenopatia retroperitoneală).

Limfografia bipedală este mult mai sensibilă, fiindpozitivă in 85-95% din cazuri, in comparaţie cu tomografia computerizată, care este pozitivă dar in 40-65% din cazuri.

Limfografia bipedală poate descoperi boala chiar atunci când ganglionii sunt de mărime normala, dar aceştia au modificări de arhitectura (aspect „spumos" cu defecte de umplere).

In contrast, tomografia computerizată poate vizualiza ganglionii celiaci, splenici, portali sau mezenterici, care rar sau niciodată, nu sunt vizualizari la limfoangiografie.

Scintigrama cu Ga57 este cuprinsă în grupul de explorări paraclinice dar este foarte utilă în recunoaşterea determinărilor de boală la nivelul mediastinului dupa tratament.

Laparotomia exploratorie este mai puțin importantă astăzi decât în urmă cu 10 ani şi ea este discutată doar la pacientii care au indicatie de radioterapie (stadiul I) şi la care există suspiciunea unor mase ganglionare intraabdominale, care ar putea modifica decizia de tratament.

Dacă urmăm această schemă, după etapa de anamneză, examen fizic, examen radiologic obişnuit, aproximativ 90%din pacienţi pot fi încadraţi în stadiul I sau II de boală. După efectuarea limfangiografiei, 1/3 din aceşti pacienti pot fi incadraţi intr-un stadiu mai avansat de boală.
Dacă la aceşti pacienți suspectăm determinarea de boală la nivelul splinei, laparotomia cu splenectomie rămâne cea mai importantă investigație; celelalte metode de explorare pot oferi, in măsură egală, rezultate pozitive sau negative.

Ficatul este afectat odată cu splina, iar prezenţa mai multor noduli splenici,a ganglionilor abdominali, aspectelor histologice de up sărac limfocitar sau mixt-celular, cresc posibilitatea de afectare hepatică. Aproximativ 1/3 din pacienții cu boala Hodgkin, care au fost încadrati intr-un stadiu timpuriu de boală după examenul clinic, după Laparotomie au fost reevaluați și încadrați ca fiind în stadii avansate de boală.

După parcurgerea completă a schemei cu metodele sale de stadializare, (60%) dintre pacienti vor fi incadrati într-un stadiu avansat de boală (III şi IV).

Pentru a sintetiza etapele clinice şi paraclinice utile in diagnostic prezentăm tabelul X-13

Recomandări pentru stadializarea bolii Hodgkin

- Anamneză şi examen clinic complet
  -identificarea simptomelor B
- Explorari radiologice
  -radiografia toracică tomografie computerizata pentru torace
  -tomografie computerizata pentru abdomen şi pelvis
  -limfografie bipedală
- Explorări hematologice
  -hemograma completă, formula leucocitara
  -viteza de sedimentare a hematiilor
  -puncţia măduvei osoase; biopsie de măduvă osoasă
- Explorari biochimice
  -teste pentru functia ficatului
  -electroforeza proteinelor plasmatice ·
  -lactic-dehidrogenaza, calcemia, cupremia
- Indicaţii de explorări in circumstanje speciale
  -laparotomia
  -ultrasonografia
  - rezonanţa magnetică nucleară
  -scintigrafia cu Ga57

-scintigrafia cu Tc99
-hepato-splenoscintigrama

EVOLUTIA NATURALĂ A BOLI IN CONCORDANȚA CU SUBTIPUL HISTOPATOLOGIC

a) Forma bogat limfocitară este prezentă, mai ales la persoanele tinere de sex masculin, fără semne B şi masă mediastinală, cu boala strict localizată
b) Forma cu scleroză nodulară este întâlnită mai frecvent la adolescenţii şi aduiţu tineri cu boală localizată, în special la femeile tinere cu mase mediastinale mari.
c) Forma sărac limfocitară este mai frecventă la persoanele vârsınice si se asociază cu semne B de boală, fiind diseminată chiar de la debut.
d) Forma cu celularitate mixtă este întâlnită la toate grupele de varstă cu o uşoară preponderenta la bărbati. Există totuşi o tendinţă de deplasare a incidenţei spre vârsta de 30 - 40 ani şi aproximativ 1/2 din pacienţi au o formă avansată de boală.
În lipsa tratamentului, bolnavii cu forme a) şi b) au o evolutie benignă asociată cu o perioadă mai mare de supravieţuire decât celelalte forme. Aceştia sunt mai susceptibili la fi vindecati cu radioterapie. Totuşi, toți pacienții tratați cu polichimioterapie au o durată mai mare de viață, indiferent de subtipul histologic.

Cei mai importanţi indicatori ai prognosticului sever în BH sunt determinările multiple şi aspectul tumoral masiv asociat frecvent cu rezistență la tratament. Masele mediastinale mari ce ocupă mai mult de 1/3 din diametrul toracic. răspund insuficient numai la radioterapie sau chimioterapie, dar evoluţia este mai bună după tratamentul combinat.

TRATAMENT

Tratamentul bolii Hodgkin aplicat după o corectă încadrare în stadiul clinic de evoluție și după tipul histologic poate induce remisiuni de lungă durată la 75% din pacienti. Principalele forme de tratament sunt radioterapia, polichimioterapia sau asocierea lor.

Tratamentul in stadiul timpuriu de boală

Stadiile I si II de boală, adevăratele stadii timpurii, sunt in general tratate cu radioterapie. La 5% din pacienti se obline o remisiune de lungă durată.

Bolnavii la care boala evoluează supradiafragmatic şi sunt in stadiile IA si IIA pot avea o perioadă de remisiune de 14 ani intr-un procent de 82-83. Pentru a obtine aceste rezultate favorabile trebuie aplicati o tehnica riguroasă de iradiere. Aceasta include: tratamentul de stimulare preiradiere, folosirea megalovoltajelor, a câmpurilor largi de iradiere (in manta, paraaortic) cu protejarea inimii şi plămânului precum şi administrarea de doze tumoricide. Folosirea în scop profilactic a iradierii subdiafragmatrice la toţi pacienţii cu localizare supradiafragmatică este un subiect controversat. Cele mai multe recăderi după iradiere se observă in decurs de 2 ani, la nivelul ganglionilor care nu au fost in prealabil iradiați.

Un procent mai mic de 10 din pacientii in stadiul timpuriu de boală au numai determinare subdiafragmatica. Tratamentul lor depinde de aspectul histopatologic și de numarul localizarilor. Dacă boala afectează regiunea inghino-femurala, iar aspectul histopatologic este bogat limfocitar, se poate indica radioterapia de tip Y inversat. Daca sunt afectati ganglionii paraaortici şi iliaci, probabilitatea infiltrării splinei este mare, de aceea, pentru o corectă stadializare, este necesară laparotomia.
In caz de determinare splenică se indica radioterapia şi iradierea profilactică supradiaíragmatica

Daca iradierea nu se poate face, se recurge la chimioterapie. Aplicarea corecta şi completa a unei forme de tratament va conduce la remisiuni de lunga durată, similare cu acelea ale bolnavilor cu localizare supradiafragmatică

Astăzi, pentru mulţi pacienți aflaţi in stadiile I şi II de boală se indică laparotomia.Totusi daca bolnavii sunt in stadiu IA cu localizarea deasupra claviculelor (forma IA periferică), mai ales dacă sunt femei, iar tipul histopatologic este cel bogat limfocitar sau când determinarea este restrânsă la nivelul mediastinului, nu este necesară laparotomia, deoarece afectarea subdiafragmatică este putin probabilă.

In caz de eşec al radioterapiei, acest grup de pacienţi beneficiază de chimioterapie. Nici această situaţie nu se practică laparotomia dacă medicul şi pacientul accepta toxicitatea crescută a acestei forme de tratament.

Riscul de recădere dupa radioterapie se reduce mult prin asocierea chimioterapiei, dar, pentru majoritatea pacienţilor, aceasta constituie o suprasolicitare terapeutică.

Deşi riscul tratamentului combinat este ridicat, totuşi la pacientii in stadiul IIB este indicată asocierea radioterapiei cu vinblastin, Bleomicină şi Methotrexat. In general, eficacitatea chimioterapiei este in relație inversă cu dimensiunile tumorii.

Dacă un procent de 63-75 din bolnavii cu boală Hodgkin in stadiu avansat pot fi vindecaţi cu chimioterapie, in mod sigur aceasta este eficientă şi în fazele timpurii când tumoarea este mică. Chimioterapia MOPP sau CVPP poate fi folosită singular la copiii in stadiile I si II de boală cu rezultate excelente. De asemenea, in aceste stadii, MOPP, CVPP, ABVD şi alte scheme de polichimioterapie sunt la fel de eficiente când sunt asociate cu radioterapie

Alegerea schemei de chimioterapie depinde de toleranta fiecărui pacient, de efectele adverse imediate sau tardive, de care trebuie să aibă cunoştinţă în egală măsura, atat medicul cât şi bolnavul, de experienţa proprie a oncologului.

O discuţie aparte se impune in cazul pacientilor care aparţin stadiului III. De la bun inceput trebuie menţionată în eficacitatea radioterapiei in stadiul IIIB.

Analiza statistică a răspunsului la radioterapie a pacienților din grupul IIIA a determinat divizarea acestora in subgrupe cu prognostic bun şi in subgrupe cu prognostic nefavorabil.

Astfel, pacientii din stadiul IIIA, au o forma de boală limitată la partea superioară a abdomenului (splină. ganglioni splenici, celiaci sau portali) şi au un răspuns mult mai bun la radioterapie decât pacienţii din stadiul IIIA la.care boala este localizată in 1/2 inferioara a abdomenului (ganglionii paraaortici, iliaci, mezenterici).

Determinarea splenică afectează durata perioadei de remisie. Astfel, cei care cat mai putin de 5 noduli splenici răspund bine la radioterapie, in comparaţie cu bolnavii care au o afectare splenica întinsă.

Totuşi, după multe cercetări, concluzia finala a fost aceea că pacienţii din stadiul IIIA nu au o durată de supravieţuire mai mare după polichimioterapie (in special schema MVPP) decât după radioterapie sau tratament combinat.

Tratamentul in stadiile avansate de boala

Prima indicatie terapeutică în stadiie IIIB si IV ale bolii Hodgkin este polichimioterapia. Există mai multe scheme de tratament şi acestea pot induce remisiuni in procent de 70-90 la o primă administrare, după care la o 1/3 din pacienți apare recăderea bolii, astfel că, in final, o remisiune lungă cu perioadă variabilă se obine la un procent de 50-60 din cazuri.

Această perioadă de bine poate dura in medie 7 ani, dar se poate intinde pana la 20 de ani.

Indicatorii de prognostic rezervat pentru pacienții cu stadii avansate:

-prezenta semnelor B de boală (transpiratii nocturne, febră mai mare de 38'C. pierdere ponderala);
-vârsta peste 45 de ani
-mediastinul lărgit cu 45% din diametrul toracic
-afectarea extraganglionari: măduvă osoasa, ficat, pleura
-hematocrit scazut, LDH crescut, VSH crescut;
-creşterea în sânge a CD 30 şi a receptorului solubil pentru Il-2.

Alegerea unei scheme de tratament depinde de efectele adverse ale medicamentelor cuprinse in aceasta. Astfel. pentru derivaţii de nitrozouree (Nipalkin tb) trebuie luată în considerare toxicitatea lor medulară (leucopenia şi trombopenia) şi de aceea nu vor fi indicate la pacientii cu o hemogramă modificată sau in formele severe de boala (stadiul IV) când sigur este afectată şi măduva osoasă.

Pentru prescrierea de oncovin (vincristin) trebuie cunoscută neurotoxicitatea acestuia și posibilitatea aparitiei ileusului dinamic după un număr cicluri de tratament. Aceste efecte adverse nu pot contraindica in mod absolut medicamentul dacă acesta se dovedeşte eficace pentru bolnav.

Dozele terapeutice de meclorethamin (Carmustin) pot produce greată, vărsături, dar este un citostatic foarte bun, de aceea trebuie folosită doza maximă cu care putem obtine remisiunea.

Pentru majoritatea pacientilor sunt necesare 6 cicluri de chimioterapie, dar pentru un procent de 15-20 este nevoie de un număr mai mare. Întreruperea tratamentului se va face când la examenul clinic nu mai există semne de boala, iar biopsia din creasta iliacă şi biopsia hepatică nu indică evolutivitate.

Tratamentul de intretinere nu prelungeşte durata remisiunii în boala Hodgkin, ci crește riscul unei leucemii acute non-limfocitare. Se propune asocierea radioterapiei în următoarele două situaţii:

1. prindere masivă mediastinală la pacienţii în stadiul avansat de boală;
2. când există o singură localizare ganglionară sau extraganglionară ce nu a fost influenţată de polichimioterapie.

În studiile retrospective se indică o imbunătățire a remisiunii şi o prelungire a duratei de viață, dacă se combină polichimioterapia cu iradierea.

Medicaţia citostatică indicată în boala Hodgkin:

- mecloretamina (derivat de nitrogen mustard):
- sulfat de vincristin, vinblastin = produse din Vinca rozea
-Chlorambucil (Leukeran)
- procarbazina (Natulan)
- Doxorubicina;
- Bleomicina:

- Dacarbazina.

Schemele de utilizare dupa modalitatea de combinare MOPP, CVPP, MOPP/ABVD, MVPP, ABVD, MOPP/ABV

Schema	*Doza*	*Ziua* 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
MOPP		
M (mecloretamina, nitrogen mustard)	6 mg/m² i.v.	x
O Oncovin, vincristin)	1,4 mg/m² i.v.	x x x x x x x x x x x x x x
P (procarbazina, Natulan)	100 mg/m²/p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
P (Prednison)	40 mg/m² p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
CVPP		
C (Clorambucil, Leukeran)	6 mg/m² p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
V (vinblastin, velbe)	6 mg/m² i.v.	x x
P (procarbazina)	100 mg/m² p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
P (prednison)	40 mg/m² p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
MVPP		
M (mecloretamin)	6 mg/m² i.v.	x x
V (vinblastin)	6 mg/m² i.v.	x x
P (procarbazina)	100 mg/m² p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
P (Prednison)	40 mg/m² p.o.	x x x x x x x x x x x x x x
ABVD		
A (doxarubicina)	25 mg/m² i.v.	x x
B (Bleomicina)	10 mg/m² i.v.	x x
V (vinblastina)	6 mg/m² i.v.	x x
D (Dacarbazina)	375 mg/m² i.v.	x x
Se mai pot utiliza:		
MOPP/ABV		
M (mecloretamin nitrogen mustard)	6 mg/m² i.v.	x x
O (Oncovin)	1,4 mg/m² i.v.	x x x x x x x x
P (Procarbazină)	100 mg/m² i.v.	x x x x x x x x x x x x x x
P (Prednison)	40 mg/m² p.o.	x
A (Doxorubicina)	35 mg/m² i.v.	x
B (Bleomicina)	10 mg/m² i.v.	x
V (vinblastina)	6 mg/m² i.v.	

Se mai utilizează schema de tratament în care se face în prima lună MOPP în alternanță cu ABVD.

Determinarea mediastinală masivă

In 50% din cazurile de boală Hodgkin, pacienţii prezintă mase ganglionare mediastinale, iar dimensiunea acestora influențează răspunsul la tratament.

Metoda convenţională de măsurare pe o radiografie standard postero-anterioară a toracelui constă în aprecierea lățimii masei tumorale, raportată la diametrul:toracic: Dacă aceasta depăşeşte 1/3 din diametrul toracic, este considerată masivă.

În stadiul II de boala cu determinare masivă mediastinală radioterapia totală este urmată de recăderi in 50-74% din cazuri. Dacă se administrează numai chimioterapia, recăderea se produce dintr-un număr mai mic de cazuri (33.50%).
Obişnuit, recaderea este tot la nivelul mediastinului.

Astăzi se recomandă schemele MOPP si ABVD. urmate de radioterapie. Se reduc dozele din schema MOPP pentru a reduce riscul leucemiei, iar în cazul ABVD pe acela al toxicităţii cardio-pulmonare.

La un procent ridicat de pacienți 64-88 pot persista anomalii mediastinale reziduale. Aceste modificări radiologice se pot reduce la 60% din bolnavi in decurs de un an după terminarea tratamentului.

Dacă după radioterapie sau după două cicluri complete de chimioterapie, aceste anomalii persistă fără semne de evolutie, nu se recomandă biopsia sau continuarea tratamentului.

Scintigrama cu Ga57, efectuată la acești pacienți, poate indica în unele cazuri o captare mediastinală crescută este vorba de o hiperplazie timica benigni (rebound imunologic?) şi nu de focare active de boala.

Tratamentul în formele rezistente de boală

Există un procent de pacienţi care nu răspund la iradiere. dar la care chimioterapia induce rezultate excelente. Schemele indicate sunt: MOPP, ABVD sau cea alternativă MOPP/ABVD. Un număr mic din aceşti pacienţi vor fi in continuare tratati ca a doua cura de radioterapie.

Chimioterapia, la rândul ei, poate fi lipsită de succes terapeutic. Astfel, in primii trei ani se poate constata recăderea bolii de la o 1/3 din pacienți, deşi iniţial au prezentat o remisiune completă.

Pe baza raspunsului initial, bolnavii pot fi divizaţi in 3 grupe:

- grupul cu prima remisiune completă mai lungă de 12 luni;
- grupul cu prima remisiune completă mai scurtă de 12 luni;
- grupul la care nu s-a obtinut remisiune completă.

Dacă la primul grup de pacienți succesul terapeutic a fost obținut cu cura MOPP, în continuare, la cel puțin 90% din aceşti pacienți tot cu această cură MOPP se va obține a două remisiune completă. In continuare, tot această schemă va fi indicată.

Pentru al doilea grup se indică tot cura MOPP, dar remisiuni complete se vor obţine la un procent mic de 29 de pacienţi, pentru o perioadă medie de trei ani. La acest grup, pentru a doua cură de citostatice se tratament (ABVD, CVPP).

Pentru grupul al treilea au fost preconizate mai multe alternative de tratament, dar fără rezultate optimiste:

- mai puțin de 10% vor supravieţui până la 5 ani - acesta este lotul de pacienti rezistenti la chimioterapie cu prognostic foarte rezervat. Recăderile se vor face pe aceleaşi mase ganglionare sau extraganglionare cu care a început boala

La aceşti pacienţi trebuie să se încarce totuşi „radioterapia de salvare” pe câmpuri extinse.

Transplantul de măduvă osoasă

Heterotransplantul (transplantul alogenic) și autotransplantul de măduvă osoasă pot imbunatati rezultatele chimioterapiei de salvare . .

Astăzi, pentru formele refractare la dozele convenţionale de citostatice, se indică combinarea auto transplantului de măduvă osoasă cu doze mari de citostatice, eventual cu indierea limfoda totală. Dacă şi după această cura, cu doze mari de citostatice şi transplant de măduvă apare recăderea, in continuare, boala poate fi influentata in mod foarte variat, uneori pentru perioade lungi de timp,

folosind judicios un singur medicament citostatic (administrarea paliativă a unui singur medicament pentru perioadele terminale ale bolii).

La aproximativ jumătate din pacienţii cu transplant de măduvă se obţine remisiune completă şi numai la 20-40% pentru o perioadă mai indelungată.

De asemenea vor mai beneficia de transplantul medular bolnavii cu infiltrarea măduvei osoase sau cei cu o rezerva medulara redusa, secundară chimioterapiei initiale.

Complicatii legate de tratamentul bolii Hodgkin

Astazi, durata de supraviețuire bolii Hodgkin a crescut ceea ce a facut ca şi numărul de complicatii legate de tratament să sporească considerabil.

Factorii implicati in generarea complicatiilor tardive sunt:

- injuria directă asupra tesuturilor prin radio- şi chimioterapie;
- laparotomia utilizata in scopul stadializarii și splenectomia;
- accentuarea prin tratament a defectelor imunologice ale bolii;
- septicemia cu pneumococ este o complicație severă, care poate apărea după splenectomie, cu predilectie la pacienţii sub 20 de ani (33%). Chiar după 10 ani, la cei splenectomizati probabilitatea acestei complicații este de 7%.

Atat chimioterapia cat și radioterapia induc “infertilitate”. Ovarul este mai puțin sensibil la efectele chimioterapiei decat testiculul. Amenorrea apare in procent de 80 la femeile peste 25 de ani şi intr-un procent mai mic de 30 la femeile sub 25 de ani.

Dozele de 600-2000 cGy pot fi suportate de către ovar fără pierderea functiei sale. Dacă se face iradierea in manta apare in procent de 90 o anomalie in funcţionarea tiroidei, datorita lipsei de stimulare prin TRH (thyrotropin releasing hormone).

Totusi, frecvența hipotiroidismului este de numai 6-25%. Adriablastina (doxorubicina) este cardiotoxica şi este deseori asociata cu o cardiomiopatie letala.

După iradierea în manta poate apărea pericardita acută sau cronică. Astăzi, când au fost făcute statistici pe loturi mari de bolnavi, riscul infarctului miocardic a fost estimat ca fiind de trei ori mai mare la pacienții iradiaţi.

De asemenea, iradierea în manta poate genera pneumopatia acută de iradiere şi fibroza restrictivă cronică. Riscul cel mai mare il au pacienţii cu determinare mediastinala.

Forma acută beneficiază de tratamentul cu corticosteroizi, dar acestia sunt lipsiti de eficienţă în fibroza restrictivă cronică. Una dintre cele mai severe complicaţii care poate apărea în urma unui tratament intensiv este cel de-al doilea cancer: leucemia acută mieloblastică, sindromul mielodisplazic, limfomul ne-hodgkinian sau altă tumoare solidă.

Leucemia acută mieloblastică - variază între 0,5-2% pentru primii 10 ani de supravieţuire şi de urmărire a bolnavilor. Riscul depinde de vârsta pacientului, de forma de chimioterapie, de durata de aplicare şi, în final, dacă a fost asociata cu radioterapia. Dintre tipurile de chimioterapie, regimul MOPP şi derivatii de nitrozouree par a fi mai agresivi. De asemenea, pacienţii peste 40 de ani şi cei cu splenectomie au un risc mai mare de a face a doua neoplazie.

Iradierea, de asemenea, creşte riscul, în funcţie de cantitatea de maduva iradiata, sensibilitatea fiind mai mare dacă se combina cu 6 cicluri MOPP.

Limfomul difuz agresiv - poate să apară după 10 ani de tratament cu incidență de 3%. Un număr mai mare de limfoame interesează tractul gastro-intestinal și retroperitoneul.

Dacă durata de supravieţuire în boala Hodgkin este mai mare de 10 ani, pot sa apară tumori nehematopoietice şi procentul este destul de mare (13 din pacienţi) putand creşte in timp.

Bolnavii iradiati au un risc crescut pentru melanom, cancerul glandelor salivare, cancerul pulmonar, mamar, tiroidian, gastric, laringian, tumori cerebrale, sarcoame ale tesuturilor moi.

Perioada de latență, inainte de apariția celei de-a doua tumori, este mai mare de 20 de ani, cel de-al doilea cancer poate fi cauza decesului la pacienţii cu boala Hodgkin, la care s-a aplicat o schemă corectă de tratament in toata perioada de urmarire. Pacientul şi medicul trebuie să aibă mereu in vedere posibilitatea efectelor in timp ale tratamentului.

Concluzii referitoare la tratamentul bolii Hodgkin

Pe un studiu de 25 de ani în care s-au urmarit loturi semnificative de pacienți cu boala Hodgkin, concluzia nu a fost optimista. Pentru succesul terapeutic se plătește uneori foarte scump: apariţia unui al doilea cancer sau constituirea unei aplazii medulare ireversibile urmata de septicemie sau sindrom hemoragipar sever ce pare să descurajeze ciorturile umane şi financiare. Totuşi, cercetatorii interesaţi de originea celulei Reed Sternberg şi medicii oncologi ce prescriu tratamentul si urmaresc evoluţia sunt plini de sperante și continua sa afirme ca, dupa 1990, procentul de vindecare al bolii Hodgkin ar trebui să atingă 75.

CAPITOLUL 11 - GAMOPATII MONOCLONALE

MIELOMUL MULTIPLU

DEFINITIE

Mielomul multiplu este o boală care apare prin transformarea malignă a limfocitelor B. posibil şi a limfocitelor pre-B şi chiar a unei celule limfoide mai tinere (după Barlogie şi colaboratorii, 1989). Celulele maligne au aspectul morfologie de plasmocite sau de limfocite cu citoplasma plasmocitoidă şi secretă în mod caracteristic imunoglobuline denumite monoclonale, ale căror lanturi uşoare sunt de un singur tip, fie kappa, fie lambda.

PATOGENIE

Prin studii de imunofluorescenta care detectează imunoglobulinele monoclonale s-a dovedit că intreaga populaţie celulară din mielomul multiplu provine dintr-o singură celula malignă. Astfel, mielomul multiplu constituie prototipul de boală malignă clonala. Trebuie menţionat că termenul general de clona nu este specific pentru neoplazii, el se referă la faptul că o singura celula va genera o populaţie de celule-fiice cu caractere identice cu ale celulei-mama.

Aceste proteine monoclonale sunt denumite şi paraproteine. Ele migreaza la electroforeza obişnuita intr-o banda groasa (banda M) care se suprapune peste cea normala beta sau gamma. In ansamblu, conſiguraţia electroforezei ia aspectul literei M cu 2 vârfuri: unul corespunde albuminelor şi celalalt imunoglobulinelor monoclonale.

Locul primar de proliferare a plasmocitelor maligne este măduva osoasă. La acest nivel apar noduli de tesut tumoral sau o infiltraţie interstiţiala difuza.

Celula transformata malign- plasmocitul mielomatos - ca şi plasmocitul normal, secreta factorul stimulator al osteoclastelor. Deoarece numărul celulelor neoplazice este foarte crescut, nivelul acestui factor este mult mai ridicat la persoanele cu mielom multiplu decât la cele normale.

Osteoclastele (,,macrofagele osului") intervin în mod normal in remodelarea tesutului osos. In acest proces există un echilibru intre actiunea litică a osteoclastelor şi cea de sinteza indusă de osteoblastie. In mielomul multiplu, osteoclastele stimulate in exces de factorul secretat de plasmocite impreună cu insulele de celule maligne vor expansiona intramedular şi vor duce la apariţia de „carii osoase" - leziuni osteolitice bine delimitate - alături de o osteoporoza generalizată şi de hipercalcemie.

Infiltrarea măduvei osoase cu plasmocite determină dislocarea țesutului hematopoietic normal cu modificări hematologice secundare: anemie, leucopenie, trombocitopenie.

Clasele de paraproteine pot fi: IgG, IgA, IgD, IgE sau numai lanţuri uşoare (Kappa sau lambda). Secreţia monoclonala a acestor tipuri diferite de imunoglobuline permite clasificarea uzuala in mielom multiplu de tip IgG, de tip IgA etc. La o parte din pacienţii cu MM de tip IgA se observă tendina de polimerizare a imunoglobulinelor. La aceşti bolnavi se adaugă un grup restrâns de pacienţi cu MM de tip IgG, la care se constată creșterea vâscozităţii plasmatice cu manifestări clinice specifice. Lanturile uşoare (K sau lambda) filtreaza la nivelul glomerulilor renali cu aparitia lor in urină (peak monoclonal - vezi fig. 11.1). Lanţurile uşoare din urină sunt cunoscute ca proteine Bence-Jones: ele pot determina leziuni ale tubilor renali.

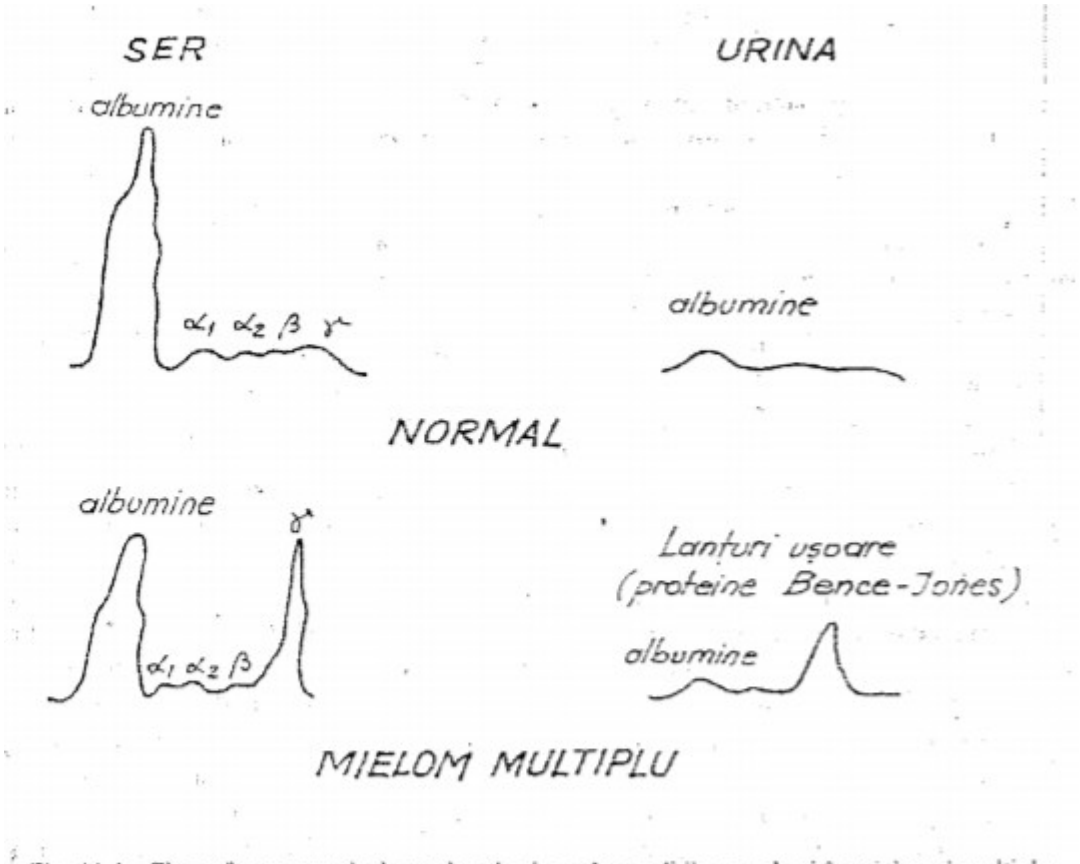


Fig. 11-1 - Electroforeza proteinelor serice şi urinare în condiţii normale şi în mielomul multiplu.

La 10 % din pacienţii cu MM. imunoglobulina monoclonală este convertită in amiloid depus in toate tesuturile - numai extracelular.

Odată cu evoluția bolii, imunitatea organismului este depresată, atât prin reducerea numarului de imunoglobuline normale cât şi prin scădere limfocitelor T circulante.

ETIOLOGIE ŞI EPIDEMIOLOGIE

Cauza mielomului este necunoscută. In unele cazuri iradierea ar putea fi un factor favorizant. Expunerea la azbest, benzen, toxice industriale şi din agricultură, virusurile pot fi luate in considerare, dar lipseşte dovada convingătoare.

O stimulare antigenică cronică la indivizi cu predispoziţie genetică ar putea induce transformarea maligna a unei clone de celule B chiar intr-un stadiu timpuriu de diferenţiere (pre-B). Există un număr de cazuri de MM asociate as prezenta HLA-B5.

Mielomul multiplu reprezinta 1 % din totalul bolilor maligne şi aproximativ 10 % din bolile maligne hematologice. Incidenţa este de aproximativ 3 la 100 000 oameni sănătoşi pe an. Numarul de cazuri pare a fi în creştere in ultimii ani, ceca ce s-ar putea explica printr-un control medical atent, care priveste grupe sociale mari din populaţia tarii.

TABLOU CLINIC

Cei mai multi pacienti au o varsta intre 50 şi 60 ani. Astăzi este recunoscut unanim faptul că în evoluția bolii există o perioadă asimptomatici cu durată variabilă (10-15 ani).

La debutul bolii, simptomul cel mai frecvent este durerea osoasă la nivelul coloanei vertebrale, in special in regiunea lombară (“back pain”). Fracturile patologice sunt de asemenea frecvente şi descori afectează vertebrele toracice, lombare şi coastele.

Fracturile vertebrelor pot determina compresia măduvei spinării (sectiune medulară) sau a rădăcinilor nervoase cu leziuni neurologice consecutive.

Tumori mielomatoase de dimensiuni mari se pot dezvolta in orice os şi pot determina semne specifice fiecărei localizari.

Insuficienţa renală cronică poate fi o formă de debut sau poate apărea în cursul evolutiei bolii. Ea este rezultatul obstructiei tubilor prin cilindri formaţi din material proteic, cu atrofie consecutivă şi fibroză interstițială (“rinichi mielomatos"). Disfuncţia renală ar putea fi rezultatul efectelor toxice produse de lanțurile uşoare pe celulele tubulare, depozitării paraproteinelor in glomeruli şi prezenta amiloidozei renale. Manifestarea cea mai precoce a afectarii tubulare este sindromul Fanconi (acidoza tubulară renala proximala tip II) cu aminoacidurie, glicozurie, fosfaturie, uricozurie, pierderea de bicarbonați prin urină cu acidoza. „Gaura anionica" (anionic gap): Na+/-(HCO3 +Cl) este modificată. Deoarece proteinele monoclonale sunt cationice, are loc o creştere compensatorie a iodului Cl-.

Insuficienta renala acuta poate fi precipitata de deshidratare, hipercalcemie si hiperuricemie, parametri biologici caracteristici evolutia mielomului.

Alle semne ale mielomului multiplu sunt:

1. anemia cu simptomele ei: astenie fizică, fatigabilitate, palpitații, precordialgii. La examenul fizic se constată paloare, tahicardie compensatorie

2. infectii recurente, bacteriene şi virale datorită scăderii nivelului de imunoglobuline și deci a titrului normal de anticorpi. Neutropenia apărută prin afectarea hematopoiezei normale poate fi un factor tot atât de important in susceptibilitatea la infectii;
3. semne sistemice legate de hipercalcemie, anorexie, vărsături, letargie, stupoare, comă, tulburări de ritm cardiac ireversibile;
4. neuropatie periferică şi a nervilor vegetativi, macroglosie, cardiomegalie, diaree, sindromul de tunel carpian, datorate amiloidozei.

Neuropatia periferică ar putea fi cauzată de infiltrația nervului cu plasmocite maligne sau prin efectul toxic direct al paraproteinelor.

Sindromul de hipervâscozitate se poate instala la o parte din pacienti (10-15%). El este caracterizat prin: tulburări neurologice, modificări caracteristice la examenul fundului de ochi, manifestări hemoragice şi insuficienţă cardiacă.

Semne şi simptome ale sindromului de hipervâscozitate (Bloch K. Makies, 1973)

Oculare	- reducerea partiala a campului vizual - distensia şi aspectul tortuos al venelor retiniene - hemoragii retiniene, edem papilar
Hematologice	- sângerări mici şi repetate ale mucoasei gingivale - epistaxisuri mici, repetate (nemotivate) - hemoragii oculte la nivelul tractului gastro-intestinal - prelungirea timpului de sângerare după intervenții chirurgicale, minore, sau după traumatisme minore - hematoame intinse -anemie moderată hipocroma
Neurologice	- cefalee, ameteli, vertij, nistagmus, hipotensiune posturala somnolenz, stupoare şi comă - convulsii generalizate, modificări electroencefalografice -pierderea auzului
Cardiovasculare	- insuficienta cardiaca congestiva - hipervolemie

Sindromul hemoragipar al pacientului cu mielom multiplu poate fi un semn de debut clinic la 1 % din totalul de bolnavi, sau se poate constitui pe parcursul evoluției bolii.

Sindromul hemoragipar este explicat prin trombopenia care apare ca urmare a dislocării hematopoiezei normale şi se poate accentua prin tratamentele repetate cu citostatice. Sângerarea de tip melenă sau hematemeza poate fi datorată sindromului de hipervâscozitate. Imunoglobulinele monoclonale, anormale, învelesc suprafaţa trombocitului care nu poate astfel inizia adeziunea și agregarea din hemostaza primară trombocitară. De asemenea, factorii coagulării sunt blocati in acţiunea lor prin prezenta acestor imunoglobuline anormale.

In mielomul multiplu, un procent mic din aceste imunoglobuline monoclonale se comportă după modelul crioglobulinelor. Descrise de Wintrobe şi Buell in 1933, au fost denumite cu termenul de crioglobuline, in 1947 de Lemer şi Watson.

Crioglobulinele sunt proteine sau un complex de proteine serice care precipită la temperaturi joase (4") şi se redizolvă prin încălzire la 37°C (precipitare reversibila).

Este mai corect termenul de complex de proteine dat de Wintrobe, deoarece astăzi se acceptat unanim, că sub denumirea de crioglobuline („criogel") se subînțeleg trei componente majore: crioimunoglobulinele, criofibrinogenul şi fibronectina serică, masurabilă prin criocrit. De aceea, în prezenta crioglobulinelor se impune efectuarea separării acestor fractiuni esenţiale şi in continuare, pentru imunoglobuline este necesară imunoelectroforeza. Crioprecipitatul poate să conţină imunoglobuline normale sau/şi imunoglobuline monoclonale. In mielomul multiplu crioimunoglobulinele vor fi de tip monoclonal. Ele vor produce manifestări cum ar fi urticaria, acrocianoza, cand pacienții sunt expuşi la frig.

DATE DE LABORATOR

Anemia normocromă normocitară este un aspect comun. Cand boala avansează, apare trombocitopenia şi neutropenia. Pe frotiul de sânge periferic se descriu leucocite in număr normal, sau scăzute moderat (foarte rar crescute), un număr mic de eritroblasti şi foarte rar, plasmocite. Caracteristică la examinarea frotiului de sânge periferic, este tendința de aglutinare, dispunerea hematiilor in “fişicuri". In ansamblu, datorită prezentei in exces a proteinelor anormale, frotiul apare la coloratie obişnuită cu Giemsa cu o tentă uniform bazofila.

Viteza de sedimentare a hematiilor este în majoritatea cazurilor crescută (mai mult de 100 mm/l). VSH este normal in MM cu IgD sau cu lanjuri uşoare. Fosfataza alcalină serică poate fi crescută consecutiv şi poate contribui la leziunea renală.

Puncţia stemală este obligatorie pentru diagnosticul de mielom multiplu. La examinarea frotiului se descrie un procent crescut de plasmocite. Plasmocitele maligne pot să aiba un aspect morfologic normal sau pot prezenta aspecte morfologice atipice cum ar fi:

1) citoplasma bogată, cu zone cu afinitate tinctoriala diferita, cu un nucleu mai mare, impins periferic şi cu un nucleol foarte bine vizibil;

2) plasmocit normal de talie 30μ, cu citoplasmă bazofilă cu 2-3 nuclei

3) plasmocite maligne foarte tinere cu citoplasma bogata, uşor bazofila cu un nucleu tânăr, mare, cu cromatina dispusă fin granular, cu prezenta a 2-3 nucleoli.

Pe unele aspirate medulare procentul de plasmocite poate fi puţin peste numărul normal (5-10% plasmocite animale); pe altele numărul este mai mare (40 %) şi in stadiile tardive maduva este infiltrată cu un procent de 80-90 celule plasmocitare maligne, care au tendinţa de a forma micronoduli tumorali.

Electroforeza serului, în mod obişnuit demonstrează că imunoglobulina monoclonala fie IgG, fie IgA migrează ca o banda groasă (banda M) (vezi lig 11.J). Pe electroforeza obişnuită imunoglobulina IgG monoclonală migrează in dreptul fracţiei μ, iar IgA migrează în dreptul fractiei beta. Celelalte imunoglobuline mielomatoase D, E sau lanţurile uşoare monoclonale nu dau un aspect caracteristic al electroforezei serului. Electroforeza este completată cu imunoelectroforeza sau imunoelectrograma serului care va permite o apreciere cantitativă a fiecărei clase de imunoglobuline şi dovedirea aspectului de "peak" monoclonal, de concentraţie în exces a unui singur tip de imunoglobulină. Lanțurile uşoare nu pot fi detectate în ser prin electroforeză şi imunoelectroforeză ci in urina de 24h. In urină, poate să apară toată molecula de imunoglobulină dacă există o afectare severă a glomerulului și a tubului renal.

După epuizarea cu ajutorul imunoelectroforezei serice şi urinare se va observa că 50% din cazurile de mielom multiplu sunt de tip IgG, 25 % sunt de lip IgA, 1-2 % sunt de tip IgD sau IgE, iar 20 % sunt mieloame secretorii cu lanţuri uşoare.

Tipizarea componentei monoclonale in MM

IgG - 50%
IgA - 25%
Lanturi Kappa sau lambda - 20%
IgD sau IgE - 1-2%
Cazuri rare cu IgM - 1%
Cazuri foarte rare “fals sectretorii” - 1%

Numai jumatate din pacienţii cu mielom multiplu secretor de IgG sau de IgA au in urina lanţuri uşoare monoclonale (testul Bence Jones pozitiv). Din acest lot cu test Bence Jones pozitiv, 2/3 din bolnavi au lanturi usoare de tip kappa. Un procent de 1 din bolnavii cu mielom multiplu, diagnosticat pe baza aspiratului medular, nu au imunoglobuline monoclonale nici in ser, nici in concentratul de urină. Ei reprezintă o formă rara foarte agresiva, denurnită mielom multiplu nesecretor.

Termenul de "fals nesecretor" este mai potrivit, deoarece, in citoplasma celulelor mielomatoase există lanţuri uşoare şi grele, dar ele, ori nu sunt asamblate, ori nu pot fi secretate, datorită aspectului imatur al celulei. Este important de reținut că la aceşti bolnavi, cu medie de vârstă 40-55 ani, un semn precoce paraclinic este creşterea valorii serice a acidului uric. Aceasta va avea ulterior ca explicație, prezența unui procent mai mare de 25 de celule mielomatoase imature in măduva osoasă.

DIAGNOSTICUL BOLII

Diagnosticul de mielom multiplu se bazeaza pe:

1. Creşterea concentraţiei in ser şi urină a unei imunoglobuline de tip monoclonal fie kappa fie lambda (“peak monoclonal") sau numai prezența in urina, in concentraţie crescuta, a lanţurilor uşoare, monoclonale.

2. O proporție crescută de plasmocite peste 10 -20 % de cele mai multe ori cu aspecte morfologice atipice, pe aspiratul de măduvă osoasă, recoltat fie din stern, fie din creasta iliacă.

3. Modificari radiologice variate: osteoporoza avansată cu tasări de corpuri vertebrale şi leziuni litice osoase bine delimitate, cu aspect de "carii".

Diagnosticul diferenţial trebuie făcut cu gamopatiile monoclonale benigne.
Stadializarea bolii: există astăzi posibilitatea de stadializare clinică a mielomului multiplu, bazată pe date clinice şi de laborator.

Stadializarea clinica a mielomului multiplu

Stadiu	Criterii	Numarul de celule tumorale (x 10^12/m2)	Durata medie de viata
I	1. Hemoglobina 10 g/dl	10 g/dl	
	2. Calcemia < 12 mg/dl		
	3. Radiologie normală a oaselor sau leziune solitari	0,6 (numar mic)	61 luni
	4. Valorile componentei M		
	a) IgG < 5 dl		
	b) IgA <3 g/dl		
	c) Lanţuri uşoare < 4 g 24h		
II	Valori intermediare intre I şi III	0,6 - 1,2 (nr intermediar)	55 luni
III	1. Hemoglobina < 6,5 g/d!		
	2. Calcemia > 12 mg/dl		
	3. Leziuni osoase avansate		
	4. Valori mari ale componentei M	1,2 (nr mare)	
	a) IgG > 7 gidi		
	b) IgA < 5 gai		
	c) Lanțuri uşoare > 12 g/24 h		
Stadiul III	A = creatinina < 12/24 h B = creatinina > 2 m/dl		30 luni 15 luni

Beta2 - microglobulina este o proteină cu greutate moleculară de aproximativ 11 000 daltoni, asemănătoare cu portiunea constantă a lanțurilor uşoare al cărei nivel seric constituie un element de prognostic pentru mielomul multiplu.

Stadializare bazata pe nivelul seric al beta2-microglobulinei

Nivelul	Stadiul	Durata medie de viata (luni)
<4µg/ml	I	43
>4µg/ml	II	13

TRATAMENT

Tratamentul cu citostatice este indicat la bolnavii simptomatici şi la cei care au funcţie renală păstrată. Tratamentul in mielomul multiplu are două fațete:

1) un tratament sistemic cu chimioterapie care încearcă să controleze progresia boli;:

2) un tratament genera! care previne complicatiile bolii și crește durata de supravieţuire.

Chimioterapia in MM se face după scheme individualizate.Pot fi folositi unu, doi sau chiar trei agenți citostatici. Decizia terapeutică trebuie să țină seama de hemogramă, de capacitatea măduvei hematopoietice de a suporta un tratament drastic chimioterapic şi, obligatoriu, de funcția renală a pacientului.

Medicamentele care pot fi indicate după diferite scheme, in tratamentul mielomului multiplu sunt prezentate mai jos:

Medicamentele citotoxice indicate in mielomul multiplu (in ordine specificității lor relative)

- Melphalan (alkeran)
- Ciclofosfamida (Endoxan)
- Vincristin
- Antracicline (Doxorubicina. Daunoblastina)
- Methotrexat
- Derivat de nitro-uree - BCNU - Nipalkin

Chimioterapia este completată in majoritatea cazurilor cu Prednison administrat per os, in doza obişnuita de 1 mg/kilocorp/zi, perioada de 4-7 zile, sau “puls terapia" cu metil-prednison 1 g/zi x 5 zile. Se consideră că Prednisonul are un efect direct pe celula limfocitara B.
În tratamentul mielomului multiplu, in special in formele diagnosticate în stadiul clinic I, se poate utiliza fie numai Melphalan (Alkeran) medicament de elecție pentru această boală, fie numai ciclofosfamidă (Endoxan). Ambele medicamente pot fi administrate oral, ceea ce este un mare avantaj pentru bolnav.

Ciclofosfamida (Endoxan) este preferată pentru că este mai puțin citotoxică şi riscul de apariție în timp a unui sindrom mielodisplazic acut sau a unei leucemii mielomonocitare acute este mai mic.

Medicamentele citostatice menţionate pot fi administrate dupa schemele prezentate în tabelele urmatoare:

Schema continua cu doze mici de Melphalan + Prednison

1. Melphalan 3mg/m2/zi x 10 zile; se continua cu doze de 1,5mg/m2/zi x 2-3 luni pana la doza totala de 200mg/m2
2. Prednison 40-80 mg/zi x 10 zile; se continua apoi cu 20-40mg/zi x 1 luna si cu 10-15mg/zi x 1 luna pana la 2-3 luni cand se intrerupe odata cu Melphalanul

Schema intermitenta cu doze mari de Melphalan + Prednison

1. Melphalan 10mg/m2/zi
   } x 4 zile la interval de 4-6 saptamani
2. Prednison 60mg/zi

Schema continua cu doze mici de ciclofosfamida + Prednison

1. Ciclofosfamida 100mg/zi x 2-3 luni
2. Prednison 30-20 mg/zi x 2-3 luni

Pentru toate schemele este obligatorie o monitorizare atentă a hemogramei, acidului uric, ureei, creatininei, fosfatazei alcaline, transaminazelor.

La prescriptia de ciclofosfamidă, chiar în această posologie moderată, obligatoriu vom avea în vedere leucopenia, alopecia, cistita hemoragică, precum si celelalte efecte adverse comune citostaticelor; greaţă, vărsături, stare de adinamie, erupţii alergice cutanate.

La o mare parte din pacientii cu mielom multiplu, în special la cei cu forme agresive. în stadiul II şi III, se indică o schemă complexă de chimioterapie (vezi tabelul XI-9).

Schema cu 3 agenti citotoxici + Prednison

Medicamentul	**Doza**	**Zile de tratament**						
		1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Melphalan (Alkeran)	8mg/m2	**x**	**x**	**x**	**x**	**-**	**-**	**-**
Ciclofosfamida (Endoxan)	200mg/m2	**x**	**x**	**x**	**x**	**-**	**-**	**-**
Leukaran (Clorambucil)	8mg/m2	**x**	**x**	**x**	**x**	**-**	**-**	**-**
Prednison	60mg/m2	**x**	**x**	**x**	**x**	**-**	**-**	**-**

sau

Medicament	Doza	Zile de tratament											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Vincristin	0,4 mg	x	x	x	x								

Doxurubicin	9mg/m2	x x x
Dexametazon	40mg/m2	x x x - - - - x x x x

sau

Medicament	Doza	Zile de tratament 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
Methrotrexat	50mg/m2/iv	x
Vincristin	1,4mg/m2/iv	x
Melphalan	3mg/zi	x x x x x x x x x x x x

Nipalkin 200 mg/m la fiecare 6 saptamani este mult mai rar folosit, datorită toxicitatii medulare şi numai in stadiile avansate de boala.

Aceste scheme se repetă la 3 săptămâni. sub controlul obligatoriu al hemogramei și al punctiei sternale. Numarul de cicluri de tratament fie cu un agent alchilant + Prednison, fie cu schemele drastice cu 2-3 agenţi citotoxici, nu poate fi stabilit la o cifra fixa. Durata tratamentului se stabileşte in functie de constantele biologice, toleranta la medicament, funcţiile vitale şi in primul rând de starea funcțională a rinichiului.

Se urmăreşte reducerea valorii imunoglobuline monoclonale, a durerilor osoase, hiperglicemiei. anemiei. Febra care poate aparea in cursul evoluţiei, poate sa raspunda prompt la corticoterapie, dacă este datorata bolii maligne şi nu unei infecţii supraadăugate. Se poate urinări eficiența tratamentului şi prin scăderea cantității de lanturi uşoare în urina din 24 ore, fiind cunoscut ca timpul de injumatatire a lanţurilor uşoare este de 6 ore. Uneori este un semn foarte fidel.

O alta forma de tratament este iradierea locala, in doza de 40 Gy. Iradierea are 2 indicatii principale:
1) noduli tumorali mtra ososi detectaţi prin CT sau RMN;
2) plasmocitomul extramedular solitar. In jumatate din cazuri se reduce mărimea tumorii mielomatoase şi se calmeaza durerile osoase

Daca pacientul are semnele clinice ale sindromului de hipervascozitate a serului (indicele de vascozitate relativa a serului este 1.4-1.8) se indica ședința de plasmafereza.

In tratamentul mielomului multiplu trebuie sa tinem seama de hipercalcemia pe care o gasim aproape constant. Aceasta räspunde bine la corticoterapie, hidratare şi natriureză. Calcitonina, scumpă ca forma de tratament, este indicata pentru a inhiba resorbţia osteoclastică a osului. În acelaşi scop, se prescriu şi compuşi de tipul diclormethanului, difosfonații (variate produse comerciale), nithramicina.

Allopurinolul (Millurit) este indicat aproape obligaloriu pentru orice formă de mielom multiplu, deoarece nivelul acidului uric seric şi/sau tisular este sigur crescut.

Androgeni de sinteza (formă orală), acidul folic şi vitamina B2 sunt indicați pentru stimularea hematopoiezei, sau pentru acoperirea necesarului de biocatalizatori consumaţi in complicaţiile de

tip anemie hemolitică. Dacă valoarea hemoglobinei este sub 6 g/dl, pacientul este în vârstă şi poate avea insuficienţă cardiacă, este indicat perfuzie cu sange integral izogrup sau cu masă eritrocitară.

Accidentele infectioase datorate bolii sau determinate de neutropenia severă post-chimioterapie, sunt atent urmărite şi sancţionate cu un antibiotic. In majoritatea cazurilor. pacienţii pot prezenta, independent de tratamentul citostatic, infectii urinare. Indicația de antibiotic conform antibiogramei este o urgență și această posibilitate de complicație infecțioasă trebuie să o avem permanent in vedere.

Un procent foarte mic dintre pacienţii cu mielom multiplu pot beneficia de perioade lungi de timp, asimptomatice și pentru unii autori acesta este un lot de bolnavi cu mielom multiplu vindecat. Afirmația are un grad de relativitate.

Este sigur insă, că un tratament complex şi competent condus poate imbunătăți net durata de supravieţuire la un procent din cazurile cu mielom multiplu, în evoluţia bolii se distinge o fază cronică (cu o durată medie 2-5 ani de la stabilirea diagnosticului), urmată de o fază acută terminală marcată de o pancitopenie severă, cu o infiltraţie plasmocitară a măduvei osoase refractară la tratament.

Cauzele de deces in mielomul multiplu:

46% din bolnavi decedeaza in faza cronica de evolutie	16% - prin progresia tumorii si infiltrarea organelor vitale 10% - insuficienta renala cronica 14% - septicemii cu bacterii variate 6% - insuficienta renala
26% din bolnavi decedeaza in faza acuta de evolutie a bolii	13% - prin progresia tumorii si infiltrarea organelor vitale 9% - septicemii cu germeni variati 5% - aparitia unei leucemii acute mieloblastice sau monocitare
23% din pacienti decedeaza prin afectiuni legate de varsta	- infarct miocardic acut - boala cronica pulmonara - diabet zaharat decompensat - accident vascular cerebral - tulburari de ritm cardiac

Mielomul multiplu, indiferent de tipul de imunoglobulină secretată, poate beneficia după o chimioterapie intensivă şi o remisie hematologică, de hetero sau autotransplantul de măduvă osoasă.

VARIANTE DE MIELOM MULTIPLU

A. Mielomul asimptomatic (,,smoldering"). Este caracterizat printr-un procent de celule mielomatoase peste 10, in măduva osoasă şi o cantitate mai mare de 3 g/dl de proteină monoclonală (componenta M) in ser, in absenţa unor simptome de boală. Mulți bolnavi pot avea o proteină M în urină şi în acelaşi timp o hipogamaglobulinemie pusă in evidenţă la electroforeză. În sângele periferic nu există celule plasmocitare atipice, nu există anemie, leziuni litice osoase, hipercalcemie sau insuficienţă renală. Aceşti pacienți sunt un măriţi atent perioade lungi de timp şi nu se intervine cu tratament decât în momentul în care boala devine simptomatică.

B. Leucemia cu plasmocite. Este o variantă a mielomului multiplu, în care se descriu în sângele periferic mai mult de 20 % celule mielomatoase - plasmocite maligne. O parte din bolnavi au de la debut tabloul leucemic; restul de pacienti se prezintă iniţial cu manifestările mielomului clasic şi dezvoltă ulterior în stadiul terminal al bolii leucemie cu plasmocite.

Se indică tratament cu Melphalan, Vincristin, Methotrexat, Prednison, conform schemelor folosite în MM clasic.

Leucemia acută cu plasmocite, fiind stadiul terminal al mielomului multiplu, nu va răspunde insă la nici o încercare de tratament agresiv. Prognosticul acestor cazuri este foarte sever.

C. Mielomul multiplu nesecretor. La un procent de 1% din bolnavii cu mielom multiplu, componenta M nu este pusă în evidenţă nici în ser, nici în urina din 24 ore. In măduva osoasă a acestor pacienţi se descriu celule de talie mare, cu citoplasma polimorfa cu zone albastru violacee, cu nuclei giganti, posibil celule monoclonale mielomatoase. Diagnosticul bolii se confirmă prin identificarea unei imunoglobuline monoclonale în citoplasma acestor celule, folosind imunoperoxidaza şi imunofluoresccența. Pacienții pot avea o parte din simptomele mielomului multiplu clasic: anemie, leucopenie cu neutropenie, dureri osoase, hiperuricemie constantă cu valori peste 10 mg %, fosfataza alcalină serică crescută. Electroforeza indică o hipergamaglobulinemie moderată în comparație cu cea descoperita in mielomul multiplu clasic.

Evoluția acestor cazuri este mai lungă decât la pacienții cu mielom multiplu clasic.

Se indică tratamentul cu Melphalan sau Endoxan in doze mai puțin agresive, uricozurie şi androgeni de sinteză.

D. Mielomul multiplu osteosclerotic este o formă de mielom caracterizat prin prezența de celule plasmocitare sub 5 % in măduva osoasă, față de 10 % in mielomul multiplu clasic, prin leziuni osteosclerolice (pot exista şi rare leziuni osteolitice) şi prin gamopatie monoclonală. In varianta de mielom multiplu osteosclerotic se constată adenopatie, iar aspectul histologic este caracteristic; hiperplazia foliculilor limfatici şi a vaselor, cu o infiltrativ de tip tumoral, cu plasmocite care se dovedesc a fi monoclonale. Această variantă este prezentă la o vârstă mai tânără decât mielomul multiplu (media 51 ani). Tabloul histologic se asociază cu o polineuropatie senzitivo-motorie demielinizantă proprie (se exclud amiloidoza şi cauzele de compresie sau infiltratie).

În același entitate de mielom multiplu osteosclerotic și cu polineuropatie se include și un sindrom mult mai complex denumit „POEMS" polineuropatie senzitivo-motorie, organomegalie (hepatomegalie, splenomegalie, adenopatie), endocrinopatie (hipogonadism şi hipotiroidism), gamopatie monoclonală (tip IgA lambda sau tip IgG lambda) şi modificări caracteristice ale pielii. Deşi aceşti bolnavi, aşa cum arată definiția, au plasmocite în proporţie de numai 5 % în măduvă, prezintă infiltrație plasmocitară în celelalte organe şi leziuni osoase de tip osteosclerotic. Este un aspect clinic mult mai complex al mielomului multiplu osteosclerotic cu polineuropatie. Este discutabil dacă sunt 2 forme distincte de evoluție a mielomului multiplu osteosclerotic: una cu adenopatie şi polineuropatie, cealaltă complexă cu polineuropatie, organomegalie, disfuncție glandulară, gamopatie monoclonală şi modificări cutanate. Astăzi, se consideră că distinctia este artificială. Modificările cutanată din sindromul “POEMS" sunt dintre cele mai evidente clinic: hiperpigmentare, hipertrichoză, îngroşarea tegumentului, fenomenul Raynaud, hipocratism al degetelor şi uneori fenomene de “flushing” (eritem al feţei). Modificările tegumentelor pot fi uneori confundate cu sclerodermia.

Menționăm în continuare anomaliile hematologice din mielomul multiplu osteosclerotic:

- trombocitoza prezentă la 76 % din bolnavi poate explica evenimentele trombotice:
- policitemia in 37 % din cazuri,
- anemia în 11 % din cazuri;
- leucocitoza (peste 10 x 10^9/l din 24 % din cazuri,
- VSH crescut la 16 % din cazuri.

In lichidul cefalorahidian proteinele sunt constant crescute pešie 45 mg/dl. Hipercalcemia şi insuficiența renală sunt rare.

O primă indicatie de tratament este iradierea, care poate îmbunătăți starea clinică, durerile osoase, dar nu prelungeşte durata de viata.Chimioterapia si plasmafereza s-au dovedit a fi fără beneficiu. Durata de viață în ansamblu, pe un lot de 38 de bolnavi a fost de 97 luni, comparativ cu media de 30-35 luni in cazurile de mielom multiplu clasic. Cauzele de deces la aceşti bolnavi, cu o evoluţie mai neobişnuită a mielomului, au fost leucemia acută mieloblastica, accidentele trombotice cerebrale, septicemii cu germeni gram negativi, insuficienţă hepatica.

E. Mielomul multiplu solitar al osului (plasmocitomul solitar al osului).
Diagnosticul este confirmat prin evidenţierea unei zone micronodulare, cu plasmocite, la nivelul măduvei osoase, care în rest nu este infiltrată. Această zonă reprezintă singura leziune de tip mielomatos. Leziunea poate fi numai la nivelul calotei, a humerusului, femurului sau a unui corp vertebral. Lipsesc celelalte criterii cardinale ale mielomului multiplu: componenta M din ser şi urină sau leziunile litice caracteristice. Foarte rar, mielomul multiplu solitar (plasmocitomul solitar al osului) poate prezenta o proteină M, monoclonală, dar iradierea tumori duce la dispariţia acestei gamopatii monoclonale. Evoluţia este benignă şi mult timp localizată. Numeroşi pacienti transformă acest tip de boala in mielom multiplu.

F. Plasmocitomul extramedular. Tumorile cu plasmocite pot avea multiple localizări, cele mai frecvente sunt la nivelul căilor respiratorii: cavitatea nazala, sinusurile nazale şi laringele.
De fapt, tumora se poate dezvolta în orice tesut: plămân, pleură, masă musculară.

Obişnuit, există fie gamopatie monoclonala în ser, fie numai lanţuri uşoare in urină. In unele cazuri este posibil să detectăm ambele anomalii.

Dacă regiunea poate fi abordată chirurgical, se practică excizia tumorii urmată de iradiere. Recăderea se face prin apariția tumorilor cu plasmocite maligne in alte organe, sau prin transformarea în mielom multiplu.

BOALA WALDENSTROM

DEFINITIE

Boala reprezintă o proliferare malignă a limfocitului B, care secreta o cantitate mare de imunoglobulină monoclonală de tip IgM. Celulele maligne au citoplasmă bazofil-violacee, plasmocitoida; ele infiltrează toate tesuturile, dar in special măduva osoasă, splina, ficatul, tesutul limfatic asociat tractului gastro-intestinal şi respirator.

Imunoglobulina IgM este de tip monoclonal, cu lanfuri uşoare de tip kappa, in 80 % din cazuri. Prezența ei în cantitate mare (peste 3 g/dl) produce un sindrom de hipervâscozitate care explică majoritatea manifestărilor clinice.

ETIOLOGIE

Etiologia acestei gamopatii monoclonale maligne de tip IgM nu este cunoscută. Totuşi, boala pare a fi mai frecventă in anumite familii, sau la pacienții care in anamıneza recunosc o infectie virală. A fost descrisă in 1944 de Waldennstrom in oraşul suedez Malmo, cu o populație mai restrânsă şi stabila.

DATE CLINICE

Incidenja maximă a bolii este la varste mai înaintate: între 60-70 ani. Este mai frecventă la bărbați decât la femei.

Debutul este insidios in majoritatea cazurilor. Pacienţii acuză o astenie neobişnuită, pierdere in greutate, o stare de rău general, cefalee, tulburări de vedere, ameteli.

La examenul fizic, pacientul, cu un aspect suferind, este palid, uneori subicteric şi chiar cu elemente peteşiale, pe tegumente. De obicei, vom descoperi adenopatie generalizata, cu ganglioni de talie mică sau medie şi hepato- splenomegalie moderată (75 %). Pacientul are neuropatie periferica, destul de frecvent. Explicația constă în faptul că imunoglobulina IgM monoclonală are specificitate pentru o glicoproteină asociată cu mielina, ceea ce duce la o boală demielinizanta grava a sistemului nervos periferic. Bolnavii pot prezenta şi o surditate care se instalează brusc şi care se datoreaza hipervâscozitatii sanguine din artera aparatului cohlear.

La examenul fizic complet putem găsi semnele unei afectiuni pulmonare manifestată prin infiltrate izolate sau confluente şi pleurezie. Malabsorbția este un aspect pe care îl găsim descris şi de Waldenström în cazurile inițiale, la care diareea este prezentă la 1 din 3 cazuri. Vasele limfatice din structura tractului gastro intestinal sunt obturate de depozite de macroglobuline (limfangiectomie).

De asemenea, macroglobulina monoclonală poate fi depusă la nivelul vilozităților intestinului subțire cu modificarea structurii normale şi a funcțiilor lor.

Manifestările renale sunt mult mai rare, mai ales dacă comparația se face cu mielomul multiplu. Atunci când apar se datorează uropatiei hiperuricemice.

Un procent mic din pacienţii cu boală Waldenström pot dezvolta amiloidoză. Examenul fizic va descoperi macroglosie şi aspectul hipocratic al degetelor.

EXAMENE DE LABORATOR

Dacă bănuim o boală Waldenström şi pacientul are manifestări de tip Raynaud sau pareze tranzitorii, este posibil să fie prezente crioimunoglobulinele. In aceste condiţii, acul, seringa şi lamele pentru frotiuri vor fi incălzite in prealabil.

Hemograma descrie o anemie constantă, normocromă sau hipocroma (90%) cu valori medii (8 g-6 g/dl) sau mai scazut (5 g/dl). Pe frotiu se remarcă dispoziția in fişicuri a hematiilor. Numărul de leucocite este de obicei normal, dar poate fi si sub 40 x 10^9/litru (4 000/mm3). În formula se constată o moderată limfocitoză. Numarul de trombocite este de asemenea normal sau scăzut.

Puncţia sternala extrage un suc medular sărac în celularitate, de aceea se completează cu biopsia de maduvă din creasta iliacă. In majoritatea cazurilor, măduva osoasă este hipocelulară, infiltrata in procent mare (peste 50) de talie mică, cu limfocite cu citoplasmă intens albastră (plasmocitoida).

Dintre datele de laborator, reţinem posibilitatea apariţiei anemiei hemolitice autoimune cu anticorpi la rece, cu testul Coombs pozitiv. În 10 % din cazuri vor fi prezente crioimunoglobuline mixte (IgM, IgG, IgM - IgA).

Imunograma efectuata va arăta prezența unei gamopatii monoclonale de tip IgM, in special cu lanțuri kappa (peste 3 g/dl). Aceste date obiective ne obligă să determinăm vâscozitatea relativă a serului, care dacă este crescută, va susţine diagnosticul de sindrom de hipervascozitate.

Examenul fundului de ochi arată un aspect caracteristic pentru sindromul de hipervâscozitate: hemoragii, exudate şi congestie venoasă cu segmentarea vasculară. Examenul trebuie repetat după şedinţele de plasmafereză, care pot influenza aceste modificari.

La examenul obişnuit al sedimentului urinar se poate constata uneori hematuric. Proteine Bence-Jones sunt prezente in 50 % din cazuri.

Spre deosebire de mielomul multiplu, radiologia nu aduce argumente pentru diagnostic, se va descrie o osteoporoză generalizată.

Diagnosticul diferential se face cu mielomul multiplu cu secreţie de tip IgM, cu leucemia limfatică cronică, cu limfomul malign nehodgkinian şi cu gamopaliile monoclonale benigne cu IgM.

TRATAMENT

Tratamentul de elecție este plasmafereza (dacă starea bolnavului o permite) până se ajunge la un indice de vâscozitate apropiat de valoarea normala (1,4-1,8). Se mai poate încerca tratamentul cu Leukeran (Chlorambucil) 5 mg/zi sau cu ciclofosfamida 50 mg/zi oral.
Dacă pacientul are anemie (in mod obişnuit sub 8 %), iar funcțiile vitale pot fi afectate, se indică perfuzia cu masă eritrocitară. La pacienții cu boala Waldenström, pot să apară la debut sau în cursul evoluţiei, crize brutale de hemoliză intravasculară. In aceste situaţii se indică: corticoterapie, administrare de acid folic, vitamina B2, perfuzii cu masă eritrocitara. In funcție de valoarea acidului uric seric se va administra allopurinol (Milurit).

De asemenea, se recomandă prescrierea de antibiotice cu spectru larg, deoarece pacienţii fiind vârstnici şi imunodepresați, pot face uşor infecţii intercurente letale. Trebuie să avem în vedere şi celelalte boli aferente vârstei: insuficienţa cardiacă, diabetul zaharat, hipertensiunea arterială.

Media de viață de la diagnostic este de 3 ani, dar, ca in toate bolile, există perioade mult mai lungi de supravieţuire.

BOALA LANȚURILOR GRELE

BOALA LANTURILOR GRELE DE TIP GAMMA

Este un sindrom limfoproliferativ în care se produc lanțuri grele de tip 7, cu pierdere importantă de aminoacizi. Incidenta maximă a acestei boli este la 60 ani, deşi poate fi intalnită şi inainte de vârsta de 20 de ani. Boala are o evoluţie complexă, de la o formă asimptomatică la o variantă limfoproliferativă agresivă.

La examenul fizic toți pacienții prezintă adenopatie şi in 60 % din cazuri hepato-splenomegalie.

Hemograma arată anemie moderată (10 g/dl), normocromă, la 80% din pacienți.

Electroforeza proteinelor are un aspect normal. Imunoelectroforeza poate izola aceste lanţuri grele in exces.

Nu se indică tratament pentru formele asimptomatice. In formele limfoproliferative agresive se recomandă o cură cu ciclofosfamidă, vincristin, Prednison. Dacă nu se obține un răspuns bun, tratamentul se completează cu Doxorubicină.

BOALA LANTURILOR GRELE DE TIP ALFA

Este o boală limfoproliferativă malignă in care limfocitul B secretă în exces lanţuri grele de tip alfa.

Incidenta maxima a bolii este la oamenii tineri (20-30 ani), in special bărbaţi. Cele mai multe cazuri sunt in bazinul mediteranean.

Adenopatiile sunt frecvente, in special cele localizate subdiafragmatic și retroperitoneal. Infiltrarea cu limfocite B a tubului digestiv explică sindromul sever de malabsorbtie cu pierdere in greutate, şi steatoree, prezent la majoritatea bolnavilor.

Electroforeza proteinelor serice este normala la o parte din bolnavi, dar poate arăta o creştere a fracţiunii alfa si beta. Proteinuria Bence-Jones nu se observă.

Tratamentul este complex, datorita sindromului sever de malabsorbție care domină tabloul clinic Se indică un tratament suportiv, completat cu antibiotice şi cu asocieri de chimioterapie (ciclofosfamidă, Prednison şi Melphalan). Majoritatea cazurilor au un prognostic foarte sever, durata de viata de la stabilirea diagnosticului nedepăşind 24 ani.

BOALA LANTURILOR GRELE DE TIP MIU

Este o gamopatie monoclonala rara. La examenul fizic se constată adenopatie şi eventual hepatosplenomegalie. Electroforeza proteinelor arata in aceste cazuri o marcata hipogamaglobulinemie. In urină, la 25 % din bolnavi este prezenta proteina Bence Jones.

Evoluţia este variabila, corticoterapia şi agenţii citotoxici amintiti in celelalte doua tipuri de gamopatii monoclonale put produce un oarecare beneficiu.

GAMOPATII MONOCLONALE BENIGNE

Sunt sindroame caracterizate prin prezența unei componente monoclonale, in absenta unei proliferari neoplazice a limfocitului B.

Astfel, sunt excluse din definiție, neoplaziile tesutului limfatic (leucemii, limfoame) nu însă și gamopatiile care apar in tumorile maligne ale altor organe. In ultimele cazuri, termenul de “benign" se refera la comportamentul plasmocitelor care secretă globulinele monoclonale şi nu la celulele tumorale.

Componentele monoclonale benigne pot aparţine fiecărei clase de imunoglobuline şi din punct de vedere imunochimic, nu pot fi diferențiate de proteinele similare care apar in plasmocitoamele maligne.

Gamopalile monoclonale benigne au incidența maximă la oamenii in vārstă: 3% la varsta de 70 de ani, 10 % la indivizii de 80 de ani. Incidenta generala in populatie, la adulții de vârstă medie, este de 0.1-1 %.

Particularitățile acestor sindroame sunt:

1. Absenta leziunilor osteolitice

2. Prezența unor nivele relativ joase de imunoglobuline monoclonale (2 g/dl) care raman stabile pentru perioade lungi de timp.

3. Absenta lanțurilor uşoare din urină, sau prezența lor in concentrații foarte scăzute (500 mg/zi).

4. Valori normate pentru celelalte clase de imunoglobuline, în afara imunoglobulinelor monoclonale.

5. Prezența de plasmocite cu aspect morfologic normal în procent de 5-10 in măduva osoasă (în unele cazuri poate exista o uşoară plasmocitoză).

6. Absenta semnelor de insuficienţă medulară (concentraţie normală a hemoglobinei, număr normal de leucocite şi trombocite).

Clinic, bolnavii pot fi asimptomatici sau pot suferi dalorită neoplaziilor, infectiilor sau bolilor autoimune asociate.

Gamopatii monoclonale benigne:

1. Gamopatii monoclonale benigne asimptomatice (de tip IgG, IgA sau igM)
2. Gamopatii monoclonale simptomatice
    a. neoplazii: de colon, vezica biliara, prostată, plámán
    b. infecţii: tuberculoza, infectia cu citomegalovirus
    c. boli hepatice: hepatita cronică activă, ciroza hepatică
    d. boli de colagen: lupusul eritematos sistemic, poliartritā reumatoidā, sclerodermie, vasculite necrozante
    e. boli diverse; sarcoidoza, fibroza pulmonara, miastenia gravis, boala Gaucher, anemia Biermer, anemia hemolitică cronică cu aglutinine la rece, osteoporoza severă (pseudomielom)
3. Gamopatie pseudoclonala
    a. anemia feripriva cu hipertransferinemie

Prognosticul acestor cazuri este bun, numai la 10 % din indivizii cu gamopatie monoclonală benigna se transformă în mielom multiplu, macroglobulinemie Waldenström sau limfoame nehodgkiniene, după o perioadă de 20 de ani de urmărire. Cauza de deces este legată, de obicei, de o boală a vârstei: infarct miocardic, insuficienţă cardiacă cu tulburări de ritm, infecții intercurente.

Nu există o formă specifică de tratament, pentru a inhiba secreția benignă a imunoglobulinei monoclonale. Importantă este însă urmărirea acestor pacienți pentru perioade lungi de timp.

CRIOGLOBULINEMIILE

Crioglobulinemiile sunt imunoglobuline serice care precipită la frig (4'C) şi se redizolva la încălzire, întalnite frecvent in boli autoimune, infecţii virale, bacteriene sau parazitare, in hemopatii maligne, dar, în titruri mici și la oamenii sănătoşi.

Din punct de vedere imunochimic, crioglobulinele sunt de 3 tipuri conform clasificarii de mai jos:

Tipul I - simplu, monoclonal:
1. Asociat cu mielomul multiplu
2. Asociat cu limfom
3. Asociat cu macroglobulinemia Waldenström
4. Essential

Tipul II - mixt (complex FR-IgG) cu factori reumatoizi monoclonali (IgM, IgG sau IgA)
1. Asociat cu sindroame limfoproliferative
2. Asociat cu sindroame mieloproliferative
3. Esential

Tipul III - mixt (complex FR-igG) cu factori reumatoizi policlonali (IgM, IgG sau IgA)
1. Asociat cu boli cronice
2. Asociat cu infectie
3. Asociat cu boli autoimune
4. Esential

- tipul I - simplu, monoclonal - reprezentat de o imunoglobulină monoclonala (IgM sau IgG, mai rar IgAşi exceptional proteina Bence-Jones);

tipul II - mixt avand o imunoglobulina monoclonala (IgM, IgG sau IgA) cuplata cu o imunoglobulina IgG policlonală;

tipul III - mixt policlonal- in compoziţia sa fiind una sau mai multe clase de imunoglobuline policlonale şi, deseori, compuşi non-imunoglobulinici, cum ar fi componente ale complementului sau lipoproteine.

Crioglobulinele mixte ar putea fi diferiți anticorpi faţă de anumite antigene sau factori reumatoizi complecşi policlonali, legati cu IgG la un antigen.

Tipul III de crioglobulinemie apare la 50 % din bolnavi şi în majoritatea cazurilor este secundar unor afecţiuni variate.

Dintre afecțiunile care acompaniază crioglobulinemiile mixte secundare se pot cita:

- boli ale tesutului conjunctiv: lupusul eritematos sistemic, poliartrita reumatoida, poliarterita nodoasa, sindromul Sjögren;
- boli infecțioase: endocardite bacteriene subacute, glomerulonefrita poststreptococica, mononucleoza infecțioasă, infecţie cu virusul citomegalic şi virusul hepatitei B.

Alte afecţiuni cronice: sarcoidoza, rectocolita ulceroasă, hepatopatii cronice.

Determinarea actuală a crioglobulinelor se face prin imunoelectroforeza, care apreciază numarul şi mobilitatea constituenţilor crioprecipitatului. Completată cu dozari imunoclinice, metoda poate preciza caracterul clonal al crioglobulinemiei.

Cromoproteinele diferă de proteinele necrioglobulinernice prin compoziţia de carbohidrati, in special acidul sialic. Acest defect are ca rezultat crioprecipitabilitatea

Evenimentul ar putea fi de asemenea explicat prin actiunea muramidazei din microorganisme.

Crioglobulinemia poate fi asimptomatică, dar ea poate fi responsabila de un tablou clinic ale cărui simptome sunt corelate cu tipul imunochimic. In general, crioglobulinemiile monoclonale cu filtru mare preced sau apar in cadrul unor hemopatii maligne. Tipul III de crioglobulinemie este in majoritatea cazurilor asimptomatic: 75% din crioglobulinemiile esentiale aparţin acestui tip, dar in egală măsură este adevărat ca majoritatea crioglobulinelor mixte policlonale sunt secundare unei boli şi crioglobulinemia se poate exprima printr-un sindrom similar cu tabloul de vasculită sistemică.

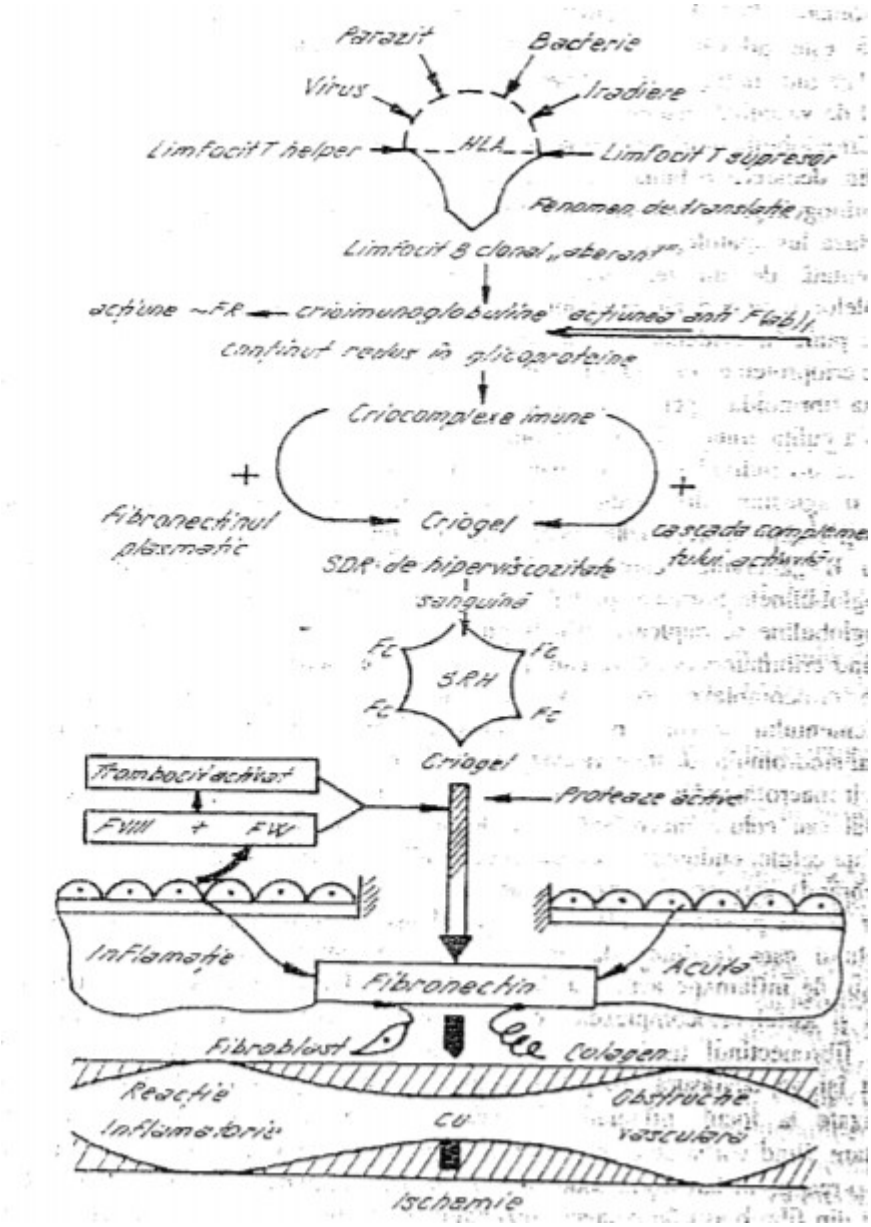
Crioglobulinemie de etiologie incertă sau greu precizabilă trebuie urmarite deoarece o bună parte din ele sunt tranzitorii. Dacă se adaugă prezenţa criofibrinogenului, semnificaţia acestei asocieri este de afectare policlonală, benignă.

Baza histopatologică a manifestărilor clinice specifice crioglobulinemiei este reprezentată de un fenomen inflamator care afectează peretele capilarelor, arteriolelor şi uneori ale arterelor de calibru mic sau mediu. Examenul morfopatologic pune în evidenţă existenta la nivelul aceleiaşi secţiuni vasculare a unui dop de crioproteine corespunzător leziunii endoteliale, ingroşarea membranei bazale, necroza fibrinoida a peretelui vascular şi infiltrat perivascular.

Vasculita imună din crioglobulinemia mixtă esenţială ar putea fi explicată astfel: la un individ cu o predispoziție genetică, caracterizată prin determinarea HLA, o agresiune din mediul înconjurător modifică echilibrul intre populaţia T helper și T supresoare, ducând la apariţia, prin fenomenul de translație, a unei clone de tip B aberante care secretă imunoglobuline ce se comportă diferit de imunoglobulinele normale, probabil printr-un conținut redus de acid sialic. Aceste imunoglobuline se cuplează prin fragmentul F (a,b)1 cu o altă imunoglobulină, realizând crioimunocomplexe care pot avea uneori activitate de factori reumatoizi.

Aceste criocomplexe vor activa pe cale clasică şi pe cale alterna cascada se vor cupla cu fibronectinul plasmatic, realizând criogelul, fond imun al sindromului de hipervăscozitate sanguina. Criogelul va fi epurat de sistemul monocit macrofag prin intermediul receptorului Fe. Dacă acest receptor este absent, anormal, sau celula macrofagă este blocată, cantitatea de criogel se depune pc suprafaţa celulei endoteliale. Celula endoteliala va secreta complexul „FVIII + FW" (Willebrand) ce vor activa proteazele inflamatorii. Declanşarea inflamatiei acute sub criogelului este facilitată de prezenţa complementului activat în criocomplex.

Procesul de inflamaţie acută va diseca enzimatic bariera endotelială şi membrana bazală şi astfel criocomplexele se vor depune in zona subendotelială, unde vor activa fibronectinul tisular secretat de aceeaşi celulă endotelială. Fibronectinul activat îşi va desfăşura receptorii pentru fibroblast şi colagen. Aceste structuri mobilizate la locul inflamației vor realiza o reparație imperfectă a ferestrei vasculare, fiind vorba de o proliferare de tip aberant. Astfel, se va antrena, pe de o parte, o reacţie inflamatorie endotelială şi, pe de altă parte, un manşon perivascular fondant din fibroblaşti de colagen, rezultatul fiind obstructia vasculară, cu ischemie consecutivă (vezi fig. 11.2).



Tabloul clinic este polimorf şi depinde de intinderea şi de calibrul vaselor interesate, cu observația că în afară de mediatorii inflamației, apăruţi în prezenţa crioglobulinelor, operează şi efectul reologic.

Manifestarile din crioglobulinemie pot fi grupate astfel:

- cutanate: fenomene Raynaud, purpura vasculară sub formă de peteşii şi uneori cu aspect necrotic, urticarie, eritem papulos, livedo reticularis, ulcere gambiere, gangrene;
- artralgii, artrite;
-cardiace: infarct miocardic, pericardita
- pulmonare: hemoptizie, pleurezie:
- hepatosplenomegalie, teste hepatice pozitive;
- renale: proteinurie, insuficienţă renală, hipertensiune arteriala;
- nervoase: neuropatie periferica, senzitiva notorie, pareze faciale
- stări febrile, herpes recidivant.

Tratamentul vasculitelor crioglobulinemice este pe cât de variat pe atât de relativ ca eficienţă. Nifedipina constituie un tratament excelent pentru vasospasticitate. Hidroxiclorochina in doze de

100 - 250 mg/zi este deseori benefica, in special in cazurile benigne. Colchicina in doze de 0,1 . 1 mg/zi, este in special recomandabilă când sunt semne de posibilă evoluție sclerodermică. Corticosteroizii si imunosupresoarele (ciclofosfamida, azathioprina) sunt indicate în formele severe. In cazurile foarte grave se recurge la plasmafereză, cu rezultate incurajatoare.

AMILOIDOZA

DEFINITIE

Amiloidoza este un termen care se referă la un grup de boli caracterizate prin acumularea extracelulară a unui material fibrilar, in diferite ţesuturi ale organismului.

Numele de “amiloid" a fost dat de Virchow in 1850, care a considera că depozitele tisulare amorfe, eozinofilice, ar fi alcatuite din polizaharide sau din substante asemănătoare cu amidonul, pe baza culorii obținute in prezenta soluţiei Lugol și acidului sulfuric.

In ultimii 15 ani, studiile secvenţelor de aminoacizi au arătat ca amioidul este constituit din cateva proteine distincte. Fiecare proteină aparține unei anumite forme clinice a bolii. Pe langa aceste diferenţe, toate tipurile de amiloid au urmatoarele caracteristici comune:

a) la microscopul cu lumină polarizată, după colorația cu roşu de Congo, emit o fluorescență verzuie;

b) la microscopul electronic apar constituite din 2 structuri: o componentă fibrilară majoră şi una minoră care are aspectul unui pentamer cu o excavație centrala (componenta P).

Pe secțiune, fibrilele au un diametru de aproximativ 100A sunt rigide si liniuare. Componenta P este identică din punct de vedere fizico-chimic în toate variantele de amiloid.

c) fibrilele, indiferent de natura chimică, au un aspect B-pliat caracteristic in difractia razelor x.

Depozitele de amiloid pot fi localizate în orice fel dar numai extracelular. Simptomatologia clinică depinde de cantitatea de amiloid acumulată şi de sediul depozitării. Evoluţia naturală a amiloidozei este puţin cunoscută şi uneori diagnosticul clinic este stabilit într-o fază avansată a bolii.

Incidența bolii în populație este greu de precizat datorită polimorfismului clinic al amiloidozei. După datele de histopatologice obținute la necropsie, incidenţa este de 0,1 - 0,5%, dar poate să crească mult după vârsta de 70 de ani, dacă ne referim strict la depozitele mici de amiloid din creier, inima, pancreas, splină.

ETIOLOGIA ŞI CHIMIA AMILOIDULUI

Etiologia este necunoscută. Amiloidul poate fi eliberat din depozitele tisulare prin extracţia cu apă distilată. Această observație a permis analiza chimică a fibrilelor obţinute din numeroase preparate de amiloid. La rândul lor, studiile au stat la baza clasificarii biochimice a amiloidozei.

Clasificarea biochimică şi clinică a amiloidozei

Tipul biochimiei	Forma clinica	Precursori cunoscuti
AL	1. Primara, idiopatica	Portiunea variabila

	2. Mielomul multiplu	lanturilor usoare tip kappa sau lambda
AA	3. Secundara reactiva	Proteina serica SAA
AF	4. Heredofamiliala	Prealbumina
AE	5. Localizata a. Focal: piele, plaman b. Focal: endocrin, tiroida (carcinomul medular, tiroidian)	-
AS	6. Senila a. Cardiac b. SNC	Transthyretina si factorul natriuretic atrial Beta proteina in boala Alzheimer
AH	7. Hemodializa cronica	Beta2-microglobulina

Fibrile de amiloid purificate sunt proteine, care apar prin proteoliza unor precursori serici solubili. Analiza secventei aminoacizilor a arătat că porţiunea variabilă a lanţului uşor din imunoglobuline constituie proteina fibrilelor din amiloidul primar sau din amiloidul asociat cu mielom multiplu. Lanțurile uşoare din imunoglobulină (proteina Bence Jones) sunt fie kappa, fie lambda Ele au o greutate moleculară care variază intre 5 000 şi 25 000 daltoni.

In amiloidoza secundară este prezentă o altă proteina care nu are nici o legătură cu imunoglobulinele. Această proteină unică, amiloidul AA are o greutate moleculară de 8500 daltoni şi este formată din 76 de aminoacizi. Precursorul amiloidului AA este proteina serică SAA.

Amiloidul familial AF este o proteină constituită din 127 aminoacizi și au drept precursor o prealbumină.

Amiloidul asociat cu depunerea in organe endocrine (AE), poate avea un precursor calcitonina, iar amiloidul din hemodializa cronică (AH), beta2-microglobulina.

PATOLOGIA AMILOIDULUI

Amiloidul, proteină fibrilară, extracelulară, se prezintă ca o. substanță amorfa, eozinofilică, hialină cu distributie ubicuitară. Când depunerea de amiloid este in cantitati mici, nu se observă anomalii macroscopice deosebite ale organului.

Când amiloidul se depune in cantitate mare, organul afectat are o consisterță fermă ca de “gumă", cu un aspect cerat, de culoare cenuşie sau roz pal. Organomegalia, in special la nivelul ficatului, splinei sau inimii, este aspectul care impresioneaza la primul examen macroscopic. Alte modificări evidente, la examenul macroscopic sunt variabile şi depind de prezenţa nodulilor locali de amiloid.

Colorația cu roşu Congo este cea mai răspândită şi utilă coloraţie pentru punerea în evidență a amiloidului. Sectiuni colorate, examinate la microscopul cu lumina polarizată, au o fluorescență verde „ca de măr", Cu eozină şi hematoxilină, ele vor avea o culoare roz, iar cu metil-violet sau metil-violet cristal, culoarea secţiunilor se modifică de la violet la roz., Această metacromazie obținută cu coloraţiile speciale menţionaţe şi in primul rând cu roşu de Congo, permite o

prezentare a aspectului polimorf întâlnit de histopatolog, când examinează tesuturile cu depuneri de amiloid. El va remarca faptul că depozitele de amiloid sunt extracelulare, cu o predispozitie perivasculară.

- In inimă: depozite focale, sau difuze in interstitiu; perivascular in miocard, endocard şi epicard.

- In rinichi: depozite mai ales la nivelul glomerulului. Se descrie in interstițiul peritubular şi perivascular. In medulara renală se observă dilatatii tubulare cu cilindri numeroşi sub formă de aglomerare.

- La nivelul tractului gastro-intestinal: afectează tot tubul digestiv, depozitele de amiloid sunt perivasculare, sau difuze in submucoasa, in musculara mucoasei şi in subseroasă. Sunt afectate şi vezica biliară şi pancreasul.

- In ficat: depozitele pot fi limitate perivascular, dar cel mai frecvent sunt dispuse difuz, între celulele Kupffer şi celulele parenchimatoase.

- În sistemul nervos: depozite de amiloid la nivelul nervilor periferici, in sistemul nervos simpatic, in placile senile şi perivascular (angiopatia “congofila” in SNC)

- Ochi: depozite in orice porţiune a orbitei, in umorile vitroase și în cornee.

- Căile respiratorii: depozitele focale traheo-bronşice sau in parenchim: poate exista un infiltrat masiv alveolar.

- Tegumentele: depozite cutanate dispersate: zone afectate alternând cu zone indemne. Sunt infiltrate şi glandele sudoripare şi foliculii firului de păr, tesutul adipos

- Limba: poate.fi infiltrată cu depozite numeroase.

- Splina: depozite de amiloid în regiunea perisinusoidală sau difuz, desfiintand structura foliculară sau vasculară.

- Alte organe: măduva osoasă, glanda suprarenală, tiroida, sinoviala.

Componenta P este un marker al amiloidului, este un component secundar, cu totul deosebit de fibrilele de amiloid. Se marcheaza cu iod radioactiv. La microscopul electronic este descrisă ca avand o structură pentagonala, cu un diametru de 90A pe secţiune.

Nu are nici o legătură cu afinităţile tinctoriale ale amiloidului. Structura in aminoacizi este diferita de amiloid. Componenta P se ataşează de fibrilele de amiloid dupa un anumit model dependent de prezenţa Ca++. Posedă proprietăți antigenice identice cu un component nominal al plasmei care migrează la imunoelectroforeza ca o alfa-globulină. Are multe asemanări biochimice şi ultrastructurale cu proteina C reactivă dar aceasta, are 50% din greutatea moleculară a componentei P.

IMUNOLOGIA AMILOIDULUI

În cazul amiloidului AL (primar) secretia proteinei este atribuită limfocitelor B clonale; aceste lanțuri vor fi clivale de enzimele macrofagului. In amiloidoza din procesele inflamatorii şi infecțioase, interleukina-1 stimuleaza celula hepatică şi ca va produce o cantitate crescută de SAA, care va fi

parţial degradată de monocite sau de o enzima aflată pe suprafata leucocitelor: astfel se formează AA secundar. Mai există și alte forme de amiloid, spre exemplu: cel legal de Beta2-microglobulina. Atle proteine amiloidogenice sunt: transtherentinul, peptida natriuretica atrială, sau secreția carcinomului medular-tiroidian.

Astăzi se considera ca formarea in exces a amiloidului ar fi secundară (in parte) unei citokine, factorul stimulator al amiloidului, a cărui dereglare functionala ar putea explica producerea multor tipuri de amiloid.

MANIFESTĂRILE CLINICE

Manifestările clinice sunt variate şi depind atât de organul afectat, cât şi de extinderea infiltrației.

Manifestarile renale. Afectarea renala poate determina o proteinurie ușoară sau tabloul clasic de necroză. In general, leziunea renală nu este reversibilă şi insuficienta renală cronică poate fi cauza principala a decesului, la pacientii cu amiloidoză sistemică. Evoluția leziunii renale este insidioasă şi greu de prevăzut când apare insuficienta renala. Intr-o serie de cazuri, durata de supravietuire a fost de 29 luni, ,de la data diagnosticului. Astăzi, transplantul renal, hemodializa cronică al ameliorat prognosticul amiloidozei renale.

Hipertensiunea arterială este foarte rară şi numai in cazurile cu o evolutie lungă. Se reține posibilitatea tromboza venei renale şi a acidozei tubulare.Amintim ca amiloidul poale infiltra sub formă localizată ureterul şi vezica urinara.

Manifestările hepatice. Hepatomegalia este un aspect comun, dar in contrast, aspectele clinice şi datele paraclinice de laborator sunt benigne şi puțin alterate. Testele alterate vor fi fosfataza alcalină serică şi testul cu bromsulfonftaleina (BSP). Hipertensiunea portală, colestaza intrahepatica şi ascita sunt rare. Infiltrarea ficatului se face atât cu amiloid primar (AL) şi în acest caz afectarea parenchimului este masivă, cât şi cu amiloid de tip secundar (AA). Prognosticul este sever, mai ales dacă afectarea hepatică se asociază cu sindrom nefrotic: durata de supravieţuire in aceste cazuri este de 9 luni. De obicei există şi splenomegalie, dar lipsesc anemia și leucopenia.

Manifestările cardiace. Amiloidul infiltrează miocardul şi determină cardiomegalie cu insuficienţă cardiacă congestivă, asociată cu sufluri, aritmii atriale sau ventriculare, tulburări de conducere. Endocardul şi pericardul pot fi de asemenea infiltrate. Pericardita exsudativă este rară. Ecografia arată o ingroşare simetrică a peretelui ventricular posterior, hipokinezie, scăderea contractiel sistolice, o îngroşare a septului interventricular. La ecografia bidimensională se remarcă aspecte caracteristice, îngroşarea peretelui ventricular stâng și drept, dar cavitatea ventriculului stâng este normală şi are un aspect special “granular sparkling" (cu bule mici). La examenul radioscopic obişnuit cordul apare mărit de volum. Studiile de angiografie demonstrează absența unei umpleri rapide in primul moment al diastolei. Insuficienta cardiacă care apare este refractara la tratament. Pacienții sunt foarte sensibili la tratamentul digitalic. Intoxicaţia apare mai repede decât la alti pacienţi. Indicaţia tratamentului impune multă precauţie.

Manifestările cutanate. Infiltrarea cutanată este o manifestare caracteristică a bolii. Manifestările cutanate sunt foarte variate. Ele includ petesii, papule, noduli, tumori, placi şi uneori leziuni buloase. Infiltrarea cutanati da aspectul de piele iodurată, asemănătoare cu sclerodermia. Este prezent aspectul "in falduri" la nivelul axilei, in regiunea anala, inghinală, a fetei. In unele cazuri există echimoze intinse periorbitale (“sindromul ochilor negri").

Afectarea tegumentului poate să nu fie evidenta clinic, dar daca o bănuim, biopsia oferă date sigure in 90% din cazuri. Afectarea cutanată este prezentă atât in amiloidoza secundara cât și în amiloidoza primara.

Manifestarile gastro-intestinale sunt comune in amiloidoză. Ele sunt datorite afectarii directe a tractului gastro-intestinal la orice nivel şi datorită infiltraţiei sistemului nervos simpatic. Simptomele pot fi obstrucţie, ulceraţie, malabsorbtie, hemoragii, enteropatie, diaree prin care se pierd proteine.

La examenul fizic in 50% din cazurile avansate este prezentă macroglosia (infiltrarea limbii). Chiar dacă nu este mare, limba devine rigida şi fermă la palpare. Infiltrarea limbii este caracteristică pentru amiloidoza primară (AL). Macroglosia din amiloidoza mielomului multiplu se însoţeşte de sindromul de tunel carpian.

Infiltrarea esofagului duce la dificultate de deglutiţie, incompetenţa sfincterului inferior şi in rare cazuri achalazie.

Infiltratia cu amiloid a stomacului poate oferi imagini radiologice, prin îngroşări parcelare, de carcinom gastric. Diagnosticul se confirmă prin endoscopie, biopsie şi colorație cu roşu de Congo.

Sindromul de malabsorbție din amiloidoză pune probleme mari in diagnosticul diferential, care este tranşat numai prin biopsie. Trebuie infirmată tuberculoza, enterita granulomatoasă, limfomul, boala Whipple care, şi ele, se insotesc de amiloidoză secundară (AA) şi sindrom de malabsorbţie.

Sistemul nervos. Manifestările pot fi la nivel periferic sau la nivel central. Periferic pot apărea: neuropatie, sindromul de tunel carpian, hipotensiune ortostatică, incontinenta sfincterelor, impotența sexuală. Nervii cranieni in general nu sunt afectati cu excepţia celor care controlează reflexele pupilare.

La nivelul sistemului nervos central, se cunoaşte că boala devastatoare Alzheimer se datoreşte depozitelor de amiloid. Depunerea de amiloid este perivasculară „angiopatia congofilă", sau în plăcute senile. În lichidul cefalorahidian, concentratia de proteine este crescută. Sunt prezente infiltrația corneei şi a corpului vitros. In aceste două cazuri papilele au un aspect neobişnuit

Manifestarile articulare. Amiloidul poate infiltra diverse structuri articulare şi mima o boală reumatică. Studiile anatomopatologice au demonstrat o incidenţă crescută de depunere a amiloidului in membrana sinovială, cartilajul şi capsula articulara. Cel mai frecvent sunt afectate articulațiile pumnului, genunchiului, precum și articulațiile mici ale mâinii. Caracteristic pentru artropatia din amiloidoză este prezenţa tumefactiilor articulare cu o consistenţă femă, în absenţa celorlalte semne clasice ale inflamatiei (rubor, dolor).

Prin depunerea de amiloid la nivelul umarului articulaţia apare mult mărită de volum (semnul „umărului cu pernita")

Examenul radiologic al articulatiilor arată osteoporoză, foarte rar eroziuni.
Lichidul sinovial are un aspect benign, cu putine leucocite, cu predominanța celulelor mononucleare și absența de cristale.
Dacă muşchii sunt infiltraţi apare pseudomiopatia amiloidica.

Manifestările respiratorii: căile respiratorii superioare. (sinusurile nazale, faringe, laringe, trahee) pot afectate prin acumularea de amiloid care îngreunează pasajul aerian.

In plămâni, amiloidul se infiltrează în ţesuturile peritrabeobronşice, în bronhii şi alveole. Afectarea pulmonară este comună pentru toate tipurile de amiloidoză, dar semnele de suferinta respiratorie severă apar în forma primara şi în amiloidoza asociată cu mielomul multiplu.

Dacă in parenchimul pulmonar depunerea de amiloid este singulară sau multiplă, se poate confunda cu un neoplasm pulmonar. Excizia si examenul histopatologic sunt obligatorii, ele infirmă diagnosticul de neoplazie.

Manifestările hematologice. Măduva osoasă poate fi infiltrata perivascular. Anomaliile hematologice includ: scăderea concentrației fibrinogenului, accelerarea fibrinolizei şi deficiența selectivă a factorilor coagulării. Deficienţa factorului A se datoreaza probabil ataşării nespecifice a acestuia, printr-un mecanism dependent de ionii de calciu, la nivelul fibrelor polianionice de amiloid. Splenectomia poate ameliora deficienţa de factor X şi sindromul hemoragipar asociat, deoarece factorul X se afişează predominant la nivelul depozitelor de amiloid din splina.

DIAGNOSTICUL DE AMILOIDOZA

Pentru diagnosticul de amiloidoză sc coroborează datele obtinute la examenul clinic cu investigațiile paraclinice.

Diagnosticul de amiloidozā

- Examenul clinic
  Retinem: cardiomegalia, neuropatia periferică, macroglosia, hipotensiunea posturala, hepatosplenomegalia şi sindromul de tunel carpian
- Biopsia de tesut şi examinarea după colorație cu roşu de Congo la microscopul cu lumina polarizată
- Biopsia rectala este pozitivă în 80% din cazuri
- Biopsia gingivală este pozitiva in 50% din cazuri
- Aspirarea printr-un ac gros a ţesutului celular subcutanat:
  - pozitiv in 95% in AL
  - pozitiv in 60% in AA
  - pozitiv in 66% in AF

  Observatie: Orfilo şi colab, in 1986 au afirmat că biopsia tesutului adipos subcutan are sensibilitate de 52% şi o valoare predictiva in 100% din cazuri.
- Determinarea componentei P a amiloidului prin marcarea cu iod
- Determinarea lanţurilor uşoare serice şi urinare (pozitivi in 90% din cazurile de amiloidoză primara)
- Punctia stemală (pentru a confirma sau a exclude mielomul multiplu)

AMILOIDOZA HEREDO-FAMILIALA

Nu există o nosologie general acceptată pentru formele ereditare de amiloidoză. Unele clasificări au la bază sediul principal al acumulării de amiloid. Alte clasificări incearcă sistematizarea in funcție de aspectele genetice.

In general, amiloidoza heredofamiliala include un grup cu afectarea predominantă a sistemului nervos (forma neuropatica), un grup cu afectare predominant renală (forma nefropatică) şi un grup cu afectare a inimii (forma cardiopatica). Modul de transmitere este autosomal dominantă, cu excepţia amiloidozei familiale neuropatice tipul I (febra familială mediteraniană) in care transmiterea este autosomal recesivă, şi are la bază amiloidul secundar tip AA.

Clasificarea amiloidozelor heredofamiliale
Amiloidul familial de tip polineuropatic
- tipul I Portugalia
- tipul II India
- tipul III Iowa
- tipul IV Neuropatia craniana cu distrofie corneană

Amiloidul familial cu depunere oculo-leptomeningee
Amiloidul familial cu hemoragii cerebrale
Amiloidul nefropatic
- tipul I (febrá metideraneană)
- tipul II (febră şi durere abdominala)
- tipul III (urticarie, surditate, boala renala)

Amiloidul cardiopatic
- tipul I: insuficienţă cardiacă progresivă
- tipul II: determinare atriala

PROGNOSTIC ŞI TRATAMENT

În amiloidozele secundare fie unor procese inflamatorii sau infectioase, tratamentul se adresează cauzei. Se pot obține rezultate bune dacă amiloidoza este consecința unui proces infectios (tuberculoză, osteomielită, empiem) sau modeste dacă este în cadrul unei poliartrite reumatoide.

Cauzele amiloidozei secundare

- Infectii cronice
  - Tuberculoza
  - Osteomielita
  - Bronsiectazii
  - Lepra
- Infectii probabile
  - Sindrom Reiter
  - Boala Whipple

- Boli inflamatorii cronice
  - Poliartrita reumatoida
  - Artrita reumatoida juvenila
  - Spondilita anchilopoetica
  - Artrita psoriazica
  - Boala Behçet
  - Sindromul Sjögren
  - Enterita regională
  - Guta

- Boli neoplazice
  - Boala Hodgkin
  - Carcinom renal
  - Carcinom gastric

In general, amiloidoza poate progresa lent, cu durata medie de viață între 1 an şi 4 ani. Un număr mare de pacienţi au avut o evoluţie de 5-10 ani. - ..

Tratamentul specific include:

1) indepărtarea stimulului antigenic;
2) inhibiția sintezei amiloidului fibrilar, depozitat numai extracelular;
3) liza sau mobilizarea depozitelor de amiloid.

Au fost folositi o varietate de agenţi. Dintre ei colchicina a fost cel mai larg administrată, dar rezultatele bune s-au obţinut in forma familială nefropatică, în febra mediteraneana. In formele mai agresive sau cele idiopatice sau secundare mielomului multiplu, se încearcă terapia cu Prednison şi Melphalan (Alkeran). Se mai aminteşte testarea cu dimetil sulfoxid (DMSO).

Un progres in tratamentul amiloidozei severe renale cu azotemie este nefrectomia bilaterală şi transplantul renal, urmate de imunoterapie.

Cauzele de deces la aceşti pacienți sunt: insuficiența renală, stopul cardiac prin aritmii, sângerări severe gastrointestinale, insuficienţă respiratorie, insuficienţă cardiacă ireductibilă şi, in unele cazuri, infecţii supraadaugate.

CAPITOLUL 12
ANOMALII ALE HEMOSTAZEI
MECANISMELE NORMALE ALE HEMOSTAZEI

Hemostaza reprezintă un complex de evenimente biochimice care menţine fluiditatea curentului sanguin şi integritatea peretelui vascular cu rol in asigurarea hemostazei organismului. În orice moment se poate crea o breşi la nivelul peretelui vascular, insă mecanismele de oprire a sangerarii intervin prompt şi eficient. Leziunea vasului poate fi determinati chirurgical (sectiune operatorie), prin actiunea directa a unor agenti infectiosi sau prin complexele imune ataşate de celula endoteliala. Prezenta unui aterom, indiferent de dimensiunile lui, disloca celulele endoteliale și modifica peretele endotelial.

Vasele mari si mijlocii recunosc patru mari elemente de structura: celula endoteliala, zona subendoteliala, media vascularii şi adventicea.

Celula endotelială este considerati astlzi o unitate perfect anatomica si functionala, cu configurație antigenică proprie. Are un diametru de 50 um si o grosime de 3 um. Intre doua celule endoteliale vecine exista un complex jonctional: acesta poate fi mai strans, cum este cazul sistemului vascular cerebral, sau mai lax,in vasele din rinichi, maduva osoasă şi splina.
Celula endotelialá are 3 fatete: una vasculară, netrombogena, denumita si luminala, o fatetă adezivă care priveste spre membrana bazala şi o fatetă coezivă de jonctiuni cu cealalta celula endotelialk.

Suprafaţa luminală are un inveliş special glicocalixul, pus in evident cu rosu de ruthenium

Studii recente au demonstrat exista unor molecule de adeziune, exprimate pe suprafata celulei endoteliale numai in condiţii de agresiune (de exemplu in cursul proceselor inflamatorii), care interactioneaza cu portiuni specifice de pe neutrofile, favorizand atasarea acestora de perete si diapedeza.

Exista 3 familii de astfel de molecule: imunoglobulinele de suprafa ale celulei endoteliale, integrinele si selectinele.

Suprafata iterna adera la tesutul conjunctiv din zona subendoteliala prin intermediul integrinelor.

A treia faţetă a celulei endoteliale este cea mai coeziva, care prin sistemul de jonctiuni solidarizeaza elementele vecine si are un rol deosebit in transferul de informaţie de la o celula la alta. Zona aceasta joncţională serveşte, de asemenea, cu o bariera selectiva in calea macromoleculelor circulante,

A doua funcţie importanti a celulei endoteliale in afara celei de barieră de permeabilitate consta in capacitatea de a secreta factorul Willebrand, prostaciclina (PGI), fibronectina tisular, IL-8 şi posibil un material asemănător ipului V de colagen

Are o structura antigenica de suprafaţă probabil unica pentru fiecare tesut.

Tot atat de importanta este prezenta la suprafaţa celulei a trombomodulinului, o proteză pe care se ataşează trombina circulantă şi care serveste ca loc de ataşare a proteinelor C si S . Membrana bazala a vasului apare ca o structură destul de amorfa, cu o densitate moderata la microscopul electronic, Probabil este formata din elastin.

Zona subendoteliala este aria aflata in imediata vecinatate a celulei endoteliale, pe membrana bazala. Are mare importanţa funcţionala pentru procesul de hemostaza. La nivelul ei se gasesc fibre de elastină, colagen, fibronectimul tisular si glicozaminoglicani.

Tunica medie este delimitata intre zona subendoteliala si lamina elastica externa. La nivelul ei se gasesc numeroase fibre musculare netede si tesut conjunctiv extracelular. Fibra musculara neteda este o celula multifunctionala cu proprietati sintetice, cu posibilitatea de migrare si proliferare. In interiorul mediei vasculare, zona profunda contine cel putin 29 straturi de fibre musculare. Aici se afla vaso- vasorum, artera nutritiva.

Adventicea este zona extrena a vasului in care se gasesc fibroblasti, mici vase sanguine, limfatice si nervi. In jurul vasului poate exista o textura de collagen. Adventicea are rolul de a realiza o carcasa care apara structura vasculara. Are o valoare relativa pentru hemostaza, intervine doar cand este sectional.

Didactic, hemostaza este prezenta in etape ce se succed intr-o armonie fuctionala perfecta, la intervale de zecimi de secunde:

1. Faza vasculara

2. Faza trombocitara
3. Faza de activare a factorilor de colagen (coagularea propriu-zisa)
4. Faza de fibrinoliza fiziologica
5. Faza de actiune a sistemului monocit-macrofag (SRH) care epureaza din circulatie monomerii de fibrina A si B, produsii de degradare ai fibrinei (PDF), precum si factorii coagularii activati aflati in exces.
6. Faza reologica, mecanica, prin care fluxul sanguin spala locul leziunii endoteliale, reducand nr. de trombocite si concentratia factorilor de coagulare si fibrinoliza.
7. Faza de actiune a anticoagulantilor naturali(antitrombotici) care finalizeaza hemostaza.

DETALII PRIVIND ETAPELE HEMOSTAZEI

Cand se produce o lezare a integrităţii peretelui vascular, dispare bariera endoteliala şi sângele extravazează cu uşurinţă in ţesuturile din jur. Prima reacţie a organismului este cea vasculară (1) şi constă intr-un proces de vasoconstricție locală care are la bază un reflex direct de axon cu suport biochimic, serotonina.

Reflexul este completat de actiunea celulei endoteliale care eliberează o peptida puternic vasoconstrictoare denumita endotelin-tip I. Fenomenul de vasoconstrictie reduce dimensiunea breşei vasculare, dar obişnuit nu este suficient pentru a realiza oprirea definitiva a sângerării, decât dacă vasul este foarte mic. Devine necesară astfel interventia prompta a trombocitelor. Faza trombocitară (2) cuprinde urmatoarele momente: adeziunea, agregarea şi secreția trombocitara cu eliberarea unor mediatori ai coagulării in torentul sanguin.

Trombocitele circulă prin faţa peretelui vascular supraveghind integritatea lui: ele sunt incarcate cu sarcini electrice negative ca nu le permit ataşarea de celula endoteliala intacta, de asemenea incarcat negativ. La locul de leziune din peretele vasului se acumuleaza sarcini electrice pozitive, care vor atrage putemic trombocitele circulante Primul moment al adeziunii trombocitare este astfel un proces fizic de natura electrostatica (+/-), in care plachetele işi pastreze integritatea lor morfologică (aspectul discoid).

Trombocitele care au aderat la bresa vasculară, ajung in zona subendoteliala, zond trigger pentru hemostază. Aici vor fi ancorate de fibrele de colagen si puse in contact direct cu factorul Willebrand (factorul de adezivitate), eliberat de celula endotelială. Acest factor se leagă de trombocite prin intermediul unor receptori specifici: glicoproteinele Lb.

Adezivitatea trombocitar va fi în continuare amplificată prin 2 mecanisme fiziologice. Primul este realizat de fibronectinul secretat de celula endoteliala care se lipeste de factorul Willebrand si ii măreşte capacitatea de aderare la membrana Irombocitului. Pe de altă parte molecula de

fibrinogen circulantă prin intermediul lanțului ϱ se va ataşa la suprafata trombocitului, la nivelul glicoproteinelor II b si III a. Se vor crea astfel punți de macromolecule intre trombocite.

Urmeaza momentul agregări trombocitare desfaşurat în 2 valuri. Primul val are loc în prezenta ADP-ului din zona endotelială şi a fibrelor de colagen. Acțiunea agregantă a ADP-ului este atat de puternică, încât a fost denumit de Hovig „hormon agregant". Reţinem că trombocitul continua sa-şi menţină individualitatea morfologică.

Al doilea val al agregării, inalt mai puternic şi mai prelungit, este declanşat de tromboxanul A2 (TxA2) a PG care apare din fosfolipidele membranei plachetare degradate în prezenta ciclooxigenazei. TxA2, va induce o contracţie a citoscheletului trombocitar (propriu fiecărei celule) cât și o contractie a fibrelor musculare din media vasului. Datorită acestei acţiuni, membrana trombocitului devine neregulata, cu spiculi care favorizează agregarea celulelor intre ele, plachetele isi pierd complet forma şi vor secreta toate substantele intracelulare: ionii de Ca factorii 3 si 4 trombocitari, serotonina, precum si factorul de creştere a trombocitelor.

In urma acestui val de agregare şi secretie, se formeaza o masa amorfa din resturile de trombocite, care se mulează cu usurinta la nivelul bresei vasculare pe care o acoperă. Se incheie astfel hemostaza primară din care rezultă trombusul alb, plachetar, eficient doar pentru leziunile mici vasculare. El este friabil, poate fi rupt de forta proprie a curentului sanguin (vezi figura 12.1).

In continuare hemostaza va fi consolidată prin declanşarea fazei a 3-a, de coagulare, care are drept scop final generarea polimerilor de fibrină. Acestia vor Forma reteaua de fibrina in jurul trombul alb trombocitar rezultând cheagul ros, rezistent.

Clasic, coagularea poate fi prezentată desfăşurându-se pe calea sistemului intrinsec şi pe cea a sistemului extrinsec.

Calea intrinsecă începe tot in zona subendoteliala, unde in prezenta masei trombocitare depuse pe leziune şi a fibrelor de colagen va fi activat factorul XII de contact Hageman. Această reacţie este potenţată de 2 proteine plasmatice, prekalicreina transformati in kalicreină de catre factorul XII și kininogenul. In lipsa lor factorul XII poate fi activat, dar la o rata de 50 100 de ori mai redusa.

Urmează activarea factorului XI, apoi a factorului IX. Factorul IXa impreun cu factorul XVIII si cu factorul 3 plachetar, in prezenta Ca" va forma un complex care va activa factorul X.

Calea extrinseca este declanşată printr-o injurie a tesuturilor, care vor elibera un fosfolipid - tromboplastina tisulară - care va fi activatorul factorului VII, care la rândul său va activa factorul X. Deci generarea factorului X reprezintă momentul comun pentru cele 2 căi.

In continuare, urmează o punte enzimatică pe care trebuie să o parcurgă atât calea intrinsecă cât şi cea extrinsecă. Ea este formati din factorul Xa, factorul Va (activat in prezenta proteinelor C şi S din plasma) factorul 3 plachetar si Ca şi realizează complexul de protrombinaze care va cliva

protrombina. Astfel va lua nastere trombina, o serinprotează foarte activă, care va digera enzimatic in special legăturile arginina-arginina din molecula de fibrinogen.

Din actiunea trombinei asupra fibrinogenului se formează monomerii de fibrina, plus fibrinopeptidele A si B. Monomerii de fibrină, instabili, vor polimeriza, apoi prin interventia F XIIIa (stabilizator al fibrinei) se va forma o rețea de fibrina stabila care va prinde in ochiurile ei, pe langa masa trombocitara și hematii din torentul circulator rezultând trombusul hemostatic definitiv, roşu.

Etapa urmatoare a hemostazei este fibrinoliza (4) care are drept scop reducerea dimensiunii trombusului la diametrul bresei vasculare, prevenind astfel obstrucţia lumenului.

Digestia enzimatica a fibrinei este realizate de plasmină, tot o serinprotează rezultata din plasminogen,O molecula mare fabricată de celula hepatica.

Celula endoteliata, de care s- atasat trombina prin intermediul trombomodulinei va secreta activatorul tisular al plasminogenului (AT-P). AT-P este absorbit la nivelul retelei de fibrina si realizeaza un situs ideal de legare a plasminogenului.

Afinitatea AT-P pt fibrina este de 400 ori mai mare decat afinitatea acestuia pentru plasminogenul circulant. De aceea plasmina se formează numai in interiorul trombusului de fibrina.

Activarea plasminogenului in plasmina are loc si in prezenta factorului XIIIa, a urokinzei (care are rol fiziologic in tractul urinar) sau a streptokinazei, un material terapeutic obtinut din streptococ.

Se formeaza astfel o cantitate suficientă de plasmina care va digera fibrina la nivelul aceloraşi legături arginina-arginina, rezultând produsii de degradare a fibrinei (X; Y; D; E), in multiple fragmente solubile.

Orice cantitate de plasmina care scapă din reţeaua de fibrină este rapid neutralizată de α2, inhibitorul de plasmina, o proteină normal prezentă în plasmă şi secretată de granulele alfa din trombocit (plasmina când este legată de fibrină este de 100 ori mai puțin sensibila la acțiunea α2 antiplastninei, decât atunci când se găseşte libera in plasmă).

In continuare, pentru ca procesul de hemostază să se desfăşoare fiziologic, este necesară intervengia sistemului monocit-macrofag din ficat, splină, măduvă osoasă, ganglioni, care captează şi îndepărtează din circulație monornerii de fibrina, produşii de degradare ai fibrinei, precum şi factorii coagulării care depăşesc concentraţia normală (faza 5).

In cazul când acest mecanism de epurare este insuficient, hemostaza este controlată de fluxul sanguin care spală tot ce găseşte in calca sa (faza 6).

În final (faza 7) intră in acțiune anticoagulanții naturali. S-a demonstrat că fiecare moment al hemostazei are antagonistul sau specific. Astfel in faza trombocitara, tromboxanul A2, este antagonist de prostaciclina (PGI) produsă de celula endoteliala, iar ADP-ul din zona subendoteliala de AMP-ul ciclic,

In faza coagularii, trombina este inactivată de antitrombina III, o proteina fabricata de celula hepatică. Are drept cofactor heparina şi acţionează la nivelul situsului activ al trombinei, blocand-o.

In lipsa congenital sau prin consum excesiv de antitrombina III, administrarea terapentica a trombinei are un prag jos de actiune.

Antitrombina III inactivează şi alti Factori din cascada coagulasi: Xla, EXa, Xa.

Proteina C sintetizati în ficat, dependent de vitamina K, se ataşează de celula endoteliala la nivelul unui locus specific, trombomodulinul şi este activata in prezenţa trombinei. Ea are o dublă acţiune: antitrombotică prin inhibarea factorilor VIIIa şi Va şi fibrinolitică prin stimularea eliberării din celulele endoteliale a ATP.

Cofactorul proteinei C este proteina S, mult mai recent descoperită. Lipsa lor conduce la o stare de hipercoagulabilitate, care favorizează constituirea trombozelor.

Trombina însăşi este un anticoagulant natural când se ataşează pe trombomodulina celulei endoteliale, pentru că inhibă factorul V.

S-a dovedit că fiecare factor al coagulării are un anticoagulant natural. Cel mai bine cunoscut este anticoagulantul factorului VIII.

In concluzie, intervenţia promptă a factorilor naturali antitrombotici modulează hemostaza menținând-o in limitele fiziologicului.

SINDROAME HEMORAGIPARE

DEFINIȚIE ȘI CLASIFICARE

Pentru definirea unui sindrom hemoragipar este folosit termenul de purpura cu corespondentul vechi de diateză hemoragica.

Numărul sindroamelor hemoragipare este mare, iar manifestările clinice si tratamentul sunt diferite in funcție de anomalia de baza.

Pentru înţelegerea în ansamblu a sindroamelor hemoragipare se poate porni de la faptul ca fiecare etapa a hemostazei poate fi alterată intr-un mod specific Aceasta observatie sta la baza clasificarii (tabelul XII-1).

Propunere de clasificare a sindroamelor hemoragipare

Etapa hemostazei	Sindrom hemoragipar purpura
1.Etapa vasculara, de vasoconstrictie	Purpura vasculara- congenitala - dobándut
2. Etapa hemostazei primitive trombocitare	Purpura prin eliminarea cantitativa si calitativa a trombocitelor
3. Etapa de activare a factorilor coagularii	Purpura prin deficienta congenitala si dobandita a factorilor coagularii (hemofilie)
4. Etapa fibrinolizei fiziologice	Purpura fibrinolitica (fibrinoliza primara si secundara)
5. Etapa de activare a sistemului monocit-macrofag	Purpura complexa: coagulare diseminat intravasculara
6. Etapa reologica	Purpura ortostatica, mecanica
7.Faza de actiune a facturilor naturali antitrombotici	Purpura prin prezenta in exces a anticoagulantilor naturali si dobanditi

Teste de laborator in sindroamele hemoragipare

Teste de investigare a unui pacient cu sindrom hemoragipar

Testul	*Valoarea nominală*	*Orientare în diagnosticul aspectului hemostatic*
Examinarea repetată a frotiului de sânge periferic	formula leucocitară aspectul morfologic al hematiilor: prezenţa trombocitelor şi aspectul lor morfologic	leucemie cronică leucemie acută purpură trombopenică coagulare diseminată intravasculară
Numărul de trombocite	160-450 × 10^9/litru (160 000-450 000/mm^3)	Purpură trombopenică trombocitoze (reactive sau maligne)

Testul	*Valoarea normală*	*Orientare în diagnosticul aspectului hemostatic*
Timpul de sângerare (TS)	2-4 minute	Test fidel pt. hemostaza primară globală defect de număr şi calitate funcţională a trombocitului Boala Willebrand
Timpul parţial activat al tromboplastinei (TPT)	68 - 82 secunde	Deficienţa factorului VIII, IX, XII, V, X şi protrombină
Timpul de protrombină timpul Quick (TQ)	11 - 15 secunde	Factorul VII, X, V protrombină, fibrinogen
Timpul de coagulare global (TC)	5 - 11 minute	VIII, IX (A şi B hemofilie)
Timpul de generare al tromboplastinei (TGT)	80- 120 secunde	Deficienţa factorilor XII, IX, VIII, V, X
Timpul de trombină (TT)	13 - 17 secunde	Tratament cu heparină, deficienţa de fibrinogen, inhibitori ai trombinei şi polimerizarea fibrinei
Fibrinogen	160 - 415 mg/l	Coagulare diseminată intravasculară Fibrinoliza patologică din neoplazii şi boli hepatice
Testul de liză a euglobulinei	150 - 180 secunde	Fibrinoliza patologică Coagulare diseminată intravasculară
Testul de liză spontană a coagulului în eprubetă	După 4 ore cogulul se menţine	Fibrinoliză patologică
Produşii de degradare ai fibrinei (PDF)	Prezenţi normal sub 4 µg/dl	Coagulare diseminată intravasculară (PDF în exces)
Anticoagulanţi în ser	Pezente/crescute	Boala lupică, hemofilici, politransfuzaţi

PURPURA VASCULARA

Sângerările printr-o anomalie proprie peretelui vasului sunt foarte frecvente, ocupând primul loc in cadrul sindroamelor hemoragipare. Defectul interesează endoteliul vasului, matricea din zona subendotelială sau țesutul conjunctiv din peretele vasului care susţine stratul endotelial. Purpurele vasculare cuprind şi cazurile în care se formează vase sanguine anormale.

Acesté afectiuni pot fi congenitale sau dobandite.

Investigarea paraclinică nu are teste specifice pentru acest grup de dezordini hemoragice.

Examenul histopatologic poate oferi uneori date sigure de diagnostic.

Prezentarea acestor purpure, foarte variate ca etiologie și manifestare clinica, o vom face după o schemă arbitrariu acelasi. Astfel vom prezenta tipurile de leziuni posibile, de la periferia peretelui vascular, din aproape in aproape, pana la nivelul celulei endoteliale.

Purpure vasculare prin malformaţii structurale ale vasului şi ale ţesutului conjunctiv

In structura de susţinere a zonei endoteliale şi subedoteliale exista tesut conjunctiv (colagen, elastina) care poate prezenta anomalii congenitale şi dobândite.Aceasta explica fragilitatea patului vascular și apariţia unor sângerari medii sau servere, care pot reprezenta uneori complicaţii ale bolilor cu defecte ale tesutului conjunctiv.

In boala Ehlers-Danlos şi in osteogenesis imperfecta sunt descrise anomalii ale colagenului si posibil şi ale elastinei. Anomaliile de structură conduc la o fragilitate vasculara, cu sângerare spontană sau la o trauma minoră. In aceste doua boli congenitale, cu variantele lor legate de aspectul biochimie al defectului, apar echimoze Intinse si hematoame, dar in fapt este posibilă sângerarea in orice tesut.

In deficienta congenitala de hidroxilizina, o boala inrudita, sangerarea spontana poate fi singura manifestare. Alta afecțiune este pseudoxanthoma elasticum, unde există o varietate de manifestari hemoragice, cauza decesului acestor bolnavi fiind sangerarea intracraniana sau gastro-intestinală Există dovada că defectul vascular fundamental in aceasta boala este la nivelul fibrei elastice din arterele mici.

In aceste cazuri diagnosticul este clinic: nu exista tratament specific

Purpure vasculare prin anomalii dobandite ale tesutului conjunctiv

Avitaminoza C (scorbutul)

Avitaminoza C (scorbutul) este asociată cu manifestări hemoragice severe care includ sangerări gingivale persistente, hemoragii in tesutul subcutan şi în muşchi.

Hematoamele musculare sunt foarte dureroase. Caracteristice pentru această afecţiuni sunt petesiile, care sunt distribuite pe faţa medială a braţelor, în jurul foliculului de păr. La copii predomină hemoragiile subperiostale. ,Pielea suferă o hiperkeratoza, iar gingiile sunt tumefiate şi foarte dureroase.

Diagnosticul este confirmat prin demonstrarea nivelului scăzut al vitaminei in leucocite.

Pacienții cu avitaminoze C au un marcat defect in sinteza colagenului, deoarece, acidul ascorbic, vitamina C este necesară sintezei de hidroxiprolina, substanță esențială din structura colagenului.

In hemograma se poate remarca o anemie moderata (10 g/dl) datorită deficientei de acid folic și o trombopenie pasageră.

Tratamentul se face cu vitamina C 1 g/zi, divizat in doze, per os sau intravenos; se obtine un raspuns prompt, spontan, spectaculos.

Purpura senila

La oamenii in vârsta, fara o afecţiune deosebita, tesutul conjunctiv din structura peretelui vascular se reduce şi se atrofiază. Pe fața extensoare a brațelor, pe marginea radiala a antebratelor, pe fața dorsală a mâinilor, pe gât, pot apărea leziuni echimotice cu diametrul de 4 cm („semnul ochelarilor la baza nasului"). Se produc spontan in majoritatea cazurilor, dar şi în locurile supuse unor traume minore. Leziunea majora este pierderea colagenului, elastinei şi a celulelor grase din tesuturile dermului.

Exista o relație intre zonele de apariție a “purpurei senile" şi expunerea la soare. Cu timpul datorită macrofagelor incarcate cu fier, aceste pete echimotice senile devin maronii și rămân permanente. Nu există tratament.

In aceeasi categorie de purpură vasculară cu anomalie dobandita a tesutului conjunctiv este menționată “purpura caşectică". Un deficit complex de vitamine si In special vitamina C, duce la aparitia acestui tip de purpura, care nu are o dispozitie anumită pe suprafaţa corpului.

Purpura vasculara localizată la nivelul trunchiului şi extremităţilor reprezintă O complicatie obisnuită a tratamentului prelungit si in doze mari cu corticosteroizi omoloaga celei din sindromul Cushing. Ea se datoreaza catabolismului proteic CRescut. Peretele vasului se subţiază, se atrofiază şi se rupe spontan prin forta curentului sanguin, sau prin expunerea la o presiune traumatica minora.

Purpure vasculare congenitale prin leziuni In nivelul zonel subendoteliale a vasului: boala Rendu-Osler (telangiectazia hemoragică ereditară)

In aceasta purpura vasculara, anomalia ereditara de tip autosomal dominant este localizata predominant la nivelul venelor si mai puțin la nivelul arterelor.

Defectul venos este difuz în toale organele. Se formeaza fistule arterio-venoase In special in plamani. Peretele acestor vase afectate este foarte subtire, fiind format doar dintr-un strat de celule endoteliale, membrana bazală şi adventice.

Aspectul clinic include telangiectazii de 3 mm diametru, roşii sau purpurice, prezente pe fata, urechi, pe buze, sublingual sau pe marginea limbii, pe suprafata palmara si plantara. Aceste telangiectazii sunt plate, se albesc la presiune si pot conflua formand mici tumori vasculare, cat un bob de mazăre. Bolnavii nu prezinta petesii sau echimoze

Telangiectaziile viscerale se gasesc la nivelul tractului gastrointestinal, respirator si genitourinar. Prezenta lor explica frecventa mare a epistaxisului (la 80% din bolnavi), a sângerarilor gastrointestinale, oculte, dar permanente.

Un alt aspect, care poate marca evoluția boli, sunt fistulele arterio venoase pulmonare, care pot fi confirmate radiologic la 15% din pacienti si care pot constitui surse de hemoptiziii si de infectii pulmonate recurente Au mai fost descrise fistule arterio-venoase hepatice , splenice şi cerebrale; numarul lor creste cu varsta. Peste varsta de 50 ani, aceste malformatii localizate la nivelul cerebral pot determina un accident hemoragic letal.

Fiind o boala cu sangerari de la nastere (epistaxisuri, hemoptizii) cu timpul apare anemia hipocroma feripriva. De obicei la prima hemograma anemia este moderat 10 - 8 g/dl, hipocroma, cu numarul de leucocite normal si trombocite de aspect normal. Hipocromia din frotiu, sustinută de datele de la examenul fizic ne obligă la cercetarea sideremiei, care are valori foarte scazute. De asemenea, capacitatea de transport a transferinei este mare, iar indicele de saturare a siderofilinei foarte mic. Un procent de 30 din pacienti când se prezinta la prima examinare de laborator, au o hemoglobină de 5 – 6g% cu reticulocite usor crescute si cu Leucocite si trombocite normale. Pe frotiu hematiile sunt intens hipocrome şi microcitare.

Diagnosticul este uşor de pus când exista triada clasica: hemoragii recurente, prezenta unor multiple telangiectazii si antecedente heredo-colaterale specifice.

Diagnosticul diferential se face cu telangiectaziile din sclerodermie (sindromul CREST), la care examenul fizic este însă revelator precum şi cu boala Fabry (angiokeratoma difusum corporis universale). In această boală, anomalie moştenită a metabolismului glicolipidic, există o deficienta in galactosidază, cu acumularea de ceramide in macrofage, in fibriele musculare, in special in media vasului. Pe tegumente apar, la barbaţi (periombilical, pe fese, scrot). leziuni nodulare, asemanatoare cu purpura. Aceste leziuni nodulare sunt inchise la culoare aproape negre, și suprafața lor este lucioasa

In cazurile in care nu există telangiectazii pe tegumente, iar bolnavul are hemoragii gastrointestinale sau hemoptizii de cauză necunoscuta, trebuie gandim la posibilitatea bolii Rendu-Osler şi să investigam atent pacientul.

Tratamentul este simptomatic suportiv. Pentru epistaxis se fac repetate tamponari cu unguente cu Dermatol, fiind total contraindicate cauterizarile, datorită riscului mare de perforatii a septului nazal. Anemia severa se trateaza cu masa eritrocitara si in continuare se indica prescriptia permanenta de acid folic 10 mg/zi si preparate le fier.

Daca anemia este moderata si cronica se prefera numai administrarea de fier, acid folic si o data la 3 luni injectarea i.m a unei fiole de vitamina B12-1000.

Astazi , fistulele arterio-venoase descoperite, sunt tratate chirurgical, dar succesul nu este total, ele fiind difuze si in organe greu de abordat.

Purpure vasculare prin leziunea celulei endoteliale:
Purpura Henoch-Schönlein (purpura alergică, anafilactoidă)

Purpuru Henoch-Schönlein a fost descrisa in 1837 şi respectiv 1847. Este o purpură vasculară, distinctă, autolimitata, care se observă la copii și adulți tineri. Anatomo-patologic la nivelul capilarelor şi in arteriolele de calibru mic, se descrie o reacţie inflamatorie, care afecteaza celulele endoteliale, membrana bazala si Tesutul subendotelial cu creşterea permeabilităţii vasculare. Apar astfel exsudate si hemoragii perivasculare care fuzează în tesutul din jur. Leziune celulei endoteliale, a peretelui vascular este indusă de complexe imune care conțin complement si IgA. Aparitia acestei boli vasculare poate fi precedată de o infectie respiratorie, de a faringita streptococică (50% din cazuri). sau poate fi asociată cu alergii alimentare sau medicamentoase (ex chinina, sulfamide)

Tabloul clinic al bolii este variat, cuprinzand leziuni cutanate, manifestari gastrointestinaie (50%), manifestări articulare si musculare (50%) şi manifestări renale (20 – 60%).

Manifestările cutanate: pacienţii dezvolta o erupție purpurică intinsă cu elemente palpabile, sau un rash urticarian pe suprafaţa extensoare a bratelor şi membrelor inferioare, pe fese.

Manifestanle gastro-intestinale: colici abdominale, predominant periombilicale, cu tabloul de fals abdomen acut. Complicatii rare sunt melena hematochezia, perforatia intestinala. La copii intre 1 şi 14 ani manifestările de tip abdomen acut sunt mai frecvente şi pot precede celelalte determinări ale bolii.

Manifestările renale sunt: hematuria, proteinuria, edemele fiind determinate de o glomerulonefrita acută focală de tip mezangial.

Testele de hemostaza sunt normale. Evoluţia este bună, dar de lungă durata, cu repetate valuri purpurice, care nu pot fi influentate de tratament.

La un procent de 5-10 dn bolnavi apare are o insuficienţă renală acuta. Tratament specific nu există; se poate incerca corticoterapia pentru episoadele acute articulare si musculare. Imuranul (azathioprina)a fost folosit lu un procent de 30 din cazuri fara Vreun rezultat. In general boala este autolimitata, uneori după o evolutie variabila in timp se poate vindeca spontan.

Purpure vasculare dobândite, secundare unor boli inflamatorii sau metabolice

In acest grup divers de purpure vasculare, leziunea primitiva este tot la nivelul celulei endoteliale. Complexele imune circulante, apărute ca urmare a prezengei unor antigene virale sau bacteriene (meningococ) lezeaza celula endoteliala. In plus, anumiti agenti patogeni cum ar fi rickettsiile, se pot replica in celula endoteliala, o lezează şi creeaza o fisurà intre celulele sănătoase, care permite diapedeza hematiilor in derm. Se dezvolta petesii, uneori intinse, confluente, cu aspectul de „purpura fulminans", caracteristic pentru meningococemia severa. Erupția petesiala alterneaza cu bule hemoragice.

Numarul de trombocite poate fi moderat scazut, pasager si poate contribui la dezvoltarea purpurei. Dupa trecerea impactului viral sau bacterian numarul de plachete Revine la normal. Medicamente ca sulfonamidele, penicilina, allopurinol, pot cauza o reactie inflamatorie vasculara, care duce la aparitia, de maculo- papule hemoragice si rash urticarian.

Un alt tip de purpură vasculară dobândită este purpura hiperglobulinemică.

Apare la bolnavii cu cresterea imunoglobulinelor policlonale (IgG+IgA) şi se manifestă prin repetate valuri de eruptie peteşială pe membrele inferioare. In timp, apare o pigmentație brună, caracteristică, pe gambe, care permite recunoaşterea bolii la un interval de 3-5 ani de la debut. In această grupă de leziuni vasculare endoteliale pot fi incluse purpurele care apar la bolnavii cu proteine anormale din boala Waldenström, din crioglobulinemia next esențială tipul I şi II, din mielomul multiplu. Aceste proteine cresc vascozitatea serului cu reducerea fluxului sanguin prin capilare.

La elementele purpurice se adaugă hemoragiile retiniene, cât şi o alterare la nivelul nervilor periferici, eu polinevrită senzitivo motorie şi chiar zone de necroză a tegumentelor. Aspectul de „purpura fulminans" se datorează hipervâscozitatii plasmei. Tabloul clinic este mult mai dramatic când proteinele anormale interferează cu procesele de adeziune și agregare trombocitară, precum şi cu etapa de polimerizare a fibrinei, pe care o blochează. Tratamentul ideal este plasmafereza care readuce indicele de vâscozitate la normal (1,4 - 1,8).

Un ultim grup de purpure vasculare dobândite, dar foarte benigne ca evolutie, include purpura ortostatică sau mecanică, în care fluxul sanguin rupe prin forța lui celula endotelia. şi chiar peretele capilarelor.

Purpure vasculare rare

Din acest grup fac parte:

-purpura vasculara prin autosensibilizare la eritrocite,

-purpura vasculara prin autosensibilizare la ADN:
-purpura artificilă („factitious purpura") prin autoflagelare
-purpura prin autoadministrare de anticoagulant.

Autosensibilizarea in cazul hematiilor se produce la unele componente din membrana eritrocitari cum ar fi fosfatidilserina. Purpura se caracterizeaza prin elemente echimotice simetrice, apărute spontan pe brate și torace, foarte dureroase. Se asociaza cu cefalee, greată, värsături.

Obişnuit, manifestările apar la femeile de vârstă mijlocie cu Labilitate emoţională.

Purpura prin autosensibilizare la ADN are aceleaşi trăsături clinice; este mai frecvent la femeile cu expunere prelungiti la iradiere.

Purpura artificial este produsa prin autoflagelare, la persoane psihotice cu leziuni foarte bizare, de la petesii pana la echimoze intinse. Această afecțiine trebuie diferenţiată de purpura prin autoadministrare de anticoagulante (Trombo stop). In ultimul caz apare o purpură peteşială echimotică, cu sängerări gastro intestinale, la care numai o anamneza minuțională a medicului psihiatru şi a medicului internist poate gasi factorul etiologic. Este rară, dar este o urgenţă medicala pe care trebuie sa o retinem in inventarul purpurelor şi să o avem in minte Cand examinam bolnivii cu purpure severe vasculare, In toate aceste cazuri numarul de trombocite este normal, iar frotiul nu indicii anomalii leucocitare sau trombocitare

PURPURA TROMBOCITARA

Trombocitul are un rol esenţial in hemostază. Alterările cantitative sau calitative ale trombocitelor pot genera sindroame hemoragipare cu manifestări clinice foarte variate, unele cu o evoluţie şi prognostic benigne, altele severe, chiar letale.,

Trombocitele: morfologie şi durată de viata

Trombocitele se formează in măduva osoasă prin fragmentarea citoplasmei megacariocitelor. Un megacariocit normal maturat poate genera 4000-6000 trombocite. După descuamarea acestora, nucleii liberi de megacariocite vor fi fagocitati de sistemul monocit-macrofag şi astfel ciclul de viață al megacariocitului se termina.

Trombocitele din sângele periferic sunt celulele anucleate, discoide, cu diametrul de 2-3 um, fiind prezente în mod normal într-un număr variabil cuprins Intre 160 x 10^9 /1 şi 450 x 10^9/l (160000-450000 /mm). Durata lor de viaţă este de asemenea diferită, ele pot trăi între 9 şi 12 zile (în medie 10 zile) dar pot să se consume in procesul de hemostaza in primele ore de la apariţia în sânge. In această situație, durata de viață, chiar a unui trombocit tânăr, este 1-4 ore.

Determinarea duratei de viață prin marcarea cu ^{51}Cr oferă date care sunt dificil de interpretat, având in vedere cele descrise mai sus şi, în plus, marcarea insăși lezează trombocitul şi influenteaza rezultatele.

Plachetele participă la hemostaza primară, in formarea trombului alb plachetar

Testele pentru explorarea fazei trombocitare a hemostazei

Numarul de trombocite este determinat in camera de numarare. Obligatoriu rezultatul este completat cu examinare frotiului de sânge periferic pentru a fi siguri de cifra finala.

Obişnuit, pe un camp microscopic trebuie sa existe cel puțin 5-8 trombocite, usor bazofile si cu cateva granulatii in citoplasma.

Valori normale: 16000-450000 /mm^3.

Numărul poate fi scazut pana la 10x10^9/l (10 000 /mm^3) sau crescut până la 1600000 /mm^3.

Dacă numărul de trombocite este scazut, obligatoriu se efectuează puncţia sternala pentru a preciza prezenta sau absenta megacariocitelor şi stadiul lor de maturare. Normal, exista 1-2% megacariocite trombocitogene. La examinarea măduvei osoase putem descoperi anomali ale liniei leucocitare granulocitare sau ale seriei limfatice care sa explice trombopenia periferica. Se pot descrie anomalii ale seriei eritroblastice, de exempluri anemia megaloblastica, in care megacariocitele nu se matureaza normal sau produc megatrombocite distruse intramedular.

Timpul de sângerare. Măsurarea timpului de sângerare a fost introdusă de Duke in 1911. Când este efectuat in conditii standard rămâne- cel-mai- fidel test pentru estimarea funcţională a trombocitului.

Timpul de sângerare normal este 2-4 minute (după metoda Ivy). Valorile sale depind atât de numărul de trombocite cat si de functionalitatea lor. Astfel, cand activitatea lor funcțională este normala există o corelaţie directă între-numărul de trombocite şi timpul de sangerare măsurat in minute. Pănă la o valoare de 100 000/mm^3 timpul de sangerare este normal: sub această cifră există o alungire progresivă proporțională şi se ajunge la 30 minute când numărul de trombocite scade la 10.000/mm^3. Sub acest număr de 10 000/mm^3 timpul de sângerare este prelungit la o oră sau chiar la mai mult.

Pe de altă parte, dacă există alterări funcţionale in activitatea plachetelor timpul de sângerare nu se mai corelează direct cu numărul de trombocite. Astfel in uremie, în boala von Willebrand și' după ingestia de aspirină, când exista o insuficienţă funcţională a plachetelor, se produce o alungire a timpului de sângerare Intr-un mod disproporționat faţă de numărul de trombocite aflat în limitele normalului. In purpura trombocitopenică autoimună, deși trombocitele

sunt foarte scazute numeric timpul de sângerare nu este prea mult modificat, deoarece plachetele sunt mai tinere şi funcțional mai eficiente decât la o persoană sănătoasa.

Cauzele trombocitopeniei

Trombocitopenia este definită prin scăderea numărului de trombocite sub 100 000/mm^3, confirmata şi de examinarea frotiului de sange periferic.

Productia scăzută de trombocite

Numar redus de megacariocite în măduva osoasa

Infiltrarea maduvei: leucemii, limfoame, mielom multiplu, granuloame, metastaze din carcinoame. Hipoplazie medulară: idiopatică

Secundara: radiații, Insecticide, alcool, medicamente virusun

Anomalii congenitale: pancitopenia Fanconi, trombocitopenia ciclica, infectie (rubeola congenitala), trombocitopenia autosomal recesivă

Trombocitopoieză ineficienta (numărul de megacariocite este normal sau crescut)

Anomalii ereditare: trombocitopenia autosomal dominantă, anomalies May-Hegglin, Sindromul Wiskott-Aldrich

Anemii megaloblastice: deficit de vitamina B12, acid oleic

Sindroame mielodisplazice: stari preleucemice

Scurtarea duratei de viaţă a trombocitelor

Distructie crescuta de trombocite

Purpura trombocitopenica autoimuna

Purpura posttransfuzionala

Purpura neonatală alloimună

Purpura imunologică secundară

Consum excesiv de trombocite

Purpura trombotica trombocitopenica

Sindromul hemolitico-uremic

Hemangiomul cavernos

Infecții acute

Bypass cardiopulmonar

Sechestrarea trombocitelor in splina

Hipersplenism- splenomegalie congestiva (ciroza hepatica infiltrativa.

Pacienţii cu purpurà trombocitopenica sangereaza datonta unul numar scazut de trombocite. Daca se evidenţiază această trombocitopenie, urmatoareaa etapa consta in elucidarea aspectelor fiziopatologice a cauzelor si mecanismelor care au generat-o.

Fundamental se recunosc trei mecanisme ale trombopeniei :scăderea producerii de trombocite la nivelul maduvei osoase, scurtarea duratei lor de viata si sechestrarea in splina.

Cu toate investigatiile de care dispune astazi, diagnosticul etiopatogenic al trombopeniei este dificil.

PURPURA TROMBOCITOPENICĂ AUTOIMUNĂ IDIOPATICĂ

Este o afecţiune caracterizată prin apariţia spontana a unor numeroase petesii si sângerări la nivelul mucoaselor. A fost descrisă pentru prima oară in 1735 de către Werihof, dar asocierea eruptiei cu trombocitopenia a fost recunoscută mai târziu, în 1833, când Bizzozero a descoperit că elementele anucleate mici, asemănătoare cu nişte sferule strălucitoare erau de fapt trombocite. Nu a fost găsit nici un factor declanşator, de aceea purpura a fost denumită idiopatica.

În 1945, Ackroyd a descris trombocitopenia la pacienţii care luau Sedormid.ca sedativ. El a afirmat că această anomalie se datorează unor anticorpi sintetizati impotriva unor complexe formate din Sedormid şi trombocite. Ackroyd explică fenomenul pnn aceea că medicamentul realizează o legătura foarte labilă cu suprafaţa trombocitului, iar anticorpul se va combina apoi cu complexul Sedormid trombocit. conducand la distructia acestuia din urmă. Această descoperirea a determinat pe alti cercetători să incerce identificarea unor anticorpi antiplachetari in purpura idiopatică. Astazi este cunoscut că cei mai multi pacienţi cu purpura trombocitopenică idiopatică au autoanticorpi in plasmă şi pe suprafata propriilor lor trombocite, ceea ce conduce la o scurtare a duratei de viata a pachetelor datorita distrugerii premature in splina.

In 1951, Harrington a evidentiat „in vívo" (la el insusi) acesti anticorpi, arătând că dacă transfuzează la voluntari normali plasma luată de la bolnavi, se obtine o trombocitopenie prelungită.

Anticorpii antitrombocitari sunt imunoglobuline de tip IgG si pot traversa placenta, de aceea nou-născuţii din mame bolnave au trombocitopenie in primele zile de viaţă, Durata de viata a trombocitelor, la pacienţii cu purpura trombocitopenică autoimună este scurtată la aproximativ 1-2 zile sau mai putin (chiar, 5 ore) in comparatie cu cea normala care este de 10 zile Urmărirea prin trombocite marcate cu ^{51}Cr arătat că la 30% din pacienti acestea sunt distruse numai in splină, iar la restul de bolnavi, distructia are loc şi in splină si in ficat.

Purpura trombocitopenică autoimună idiopatică poate avea o evolutie acuta sau cronica; intre aceste douA forme există diferenţe privind vârsta la debut, tabloul clinic şi răspunsul la tratament.

Purpura Trombocitopenică autoimună idiopatica acută

Se poate observa la toate vârstele, dar formele cele mai frecvente sunt la copiii sub 5 ani. Doua treimi din aceşti copii au in antecedente o infecţie acut virala a cailor respiratorii superioare. Au fost incriminați următorii agenţi virali: virusul gripal, rubeolic. Epstein-Barr. Trombocitopenia este o complicație obisnuitA în infectarea cu HIV chiar la pacienţii asimptomatici, in hepatita viral si in toxoplasmoza acuta.

Debutul este brusc, cu un rash petesial care acopera aproape toate suprafetele corpului, cu epistaxis, gingivoragii si bule hemoragice în cavitatea bucala. Sangerarile gastrointestinale şi hematuria sunt comune. La examenul fizic nu se constată splenomegalie sau adenopatie.

Datele de laborator sunt foarte importante. Obisnuit, numàrul de trombocite e mai mic cu 50 x 10^9 /l (<50 000 mm^3). Valoarea hemoglobinei este normala uneori poate aparea o anemie acuta posthemoragica. Formula leucocitara normala fara celule atipice, exclude leucemie acută, Timpul de sângerare este prelungil mai ales cand trombocitele sunt in jurul valori de 20 x 10^9 /l(20 000/mm^3).

Maduva osoasa este normală, chiar cu un număr crescut de megacariocite,acestea sunt insa inhibate de maturatie, au citoplasma bazofila şi sunt netrombocitogene. Nu se constata anomalii ale seriei megacariocitare. Puncţia medulara exclude leucemia acute, trombocitopenia severa din sindromul hemolitico-uremic sau din CID post-meningococic.
In 90% din cazuri este o boala autolimitata, cei mai multi copii se vindeca in decurs de 6 săptămâni - 6 luni.

Tratamentul include: supravegherea copilului, igiena tegumentelor si a mucoaselor (spalaturi bucale cu bicarbonat de sodiu şi badijonaj cu soluție de Stamicina). Periajul este obligatoriu de 2-3-ori pe zi, in scopul îndepărtării cheagurilor de sange ce constituie medii de cultura ideale pentru flora bucal.

Corticoterapia 2 mg/kilocorp/zi este indicata numai in cazurile grave, pentru a perionda scurta -de-timp –Deasemenea se recurge la transfuziile de masa trombocitară numai in formele foarte severe. Beneficiul este mic, deoarece Trombocitele transfuzate vor fi şi ele rapid distruse și epurate de sistemul monocit macrofag. Dacă exista riscul hemoragiilor cerebrale se indica plasmafereza.

Mortalitatea este redusa: cel mai mare pericol il reprezintă hemoragia intracranian.

Dacă s-ar practica splenectomia, riscul unei septicemiipost-operatorii ar fi mai mare decat la adulţi. Când Se recurge la această formă “extrema"de tratament, este obligatorie vaccinarea copilului cu vaccin antipneumococic cu 2 săprimâni inainte de splenectomie.

Dintre cazurile de purpură trombocitopenică idiopatică 20 se pot croniciza: trombocitopenia ponte sa dureze mai mult de 6 luni şi un numar fourte mic de pacienţi sa rămana cu valori la limita inferioara a normalului.

Purpura trombocitopenică autoimună cronica

Forma cronica purpurei se observa in special la varsta intre 10 si 30 ani, dar şi la indivizi peste 45 ani. Predomină la femei raportul fiind de3:1. Debutul este insidios, in anamneza nu se descopera un eveniment infecţios recent.

Semnele şi simptomele bolii sunt reprezentate de o stare de astenie fizică in: unele cazuri paetesii, echimoze spontane care evolueaza o perioadă mai lungă decât la omul sanätos. Epistaxisurile, gingivoriile mici, zilnice, sunt comune la toàte cazurile; rare bule hemoragice se pot observa in cavitatea bucala în regiunea jugala (unde trauma mecanica este mai mare) Nu se observa hematoame profunde sau hemartroze, Hemoragia este foarte frecventa si conduce pacientul la primul consult medical. Sangerarile gastro-intestinale, hematuria sunt prezente, dar mai rar decat in PTI acuta. Hemoragia intracranian este foarte rara, 3%. La examenul clinic nu palpeaza splina, daca exista splenomegalie se pune sub semnul intrebarii purpura trombocitopenica autoimuna cronica.

Hemograma arata un numar de tromcite de 20-80 x 10^9 /litru (20 000 -80 000) la majoritatea pacientilor. Hemoglobina poate avea o valoare scazuta datorita sangerarii cronice (menometroragii, hematurie) dar in general valoarea Hb este se 11g/dl-10g/dl cu reticulocite usor crescute.

Formula leucocitara este fara atipii celulare. Este obligatorie pentru diagnostic cercetarea maduvei osoase. Se descrie un numar crescut de megacariocite tinere (de 4-8 ori faţă de numarul normal). Aceste megacariocite pot fi mai mari dar nu au atipii in citoplasma. Reducerea sau absenta megacariocitelor la'examinere maduvei osoase pune sub semnul intrebarii diagnosticul de purpura trombopenica autoimuna idiopatica. Se exclud prin punctie trombocitopenia, Datorita anemiei aplastice leucemia acuta şi cronică, infiltrare cu celule de tip mielom multiplu, limfoámele nehodgkiniene, metastazele de carcinom.

Aceşti bolnavi au o boala autoimuna cu anticorpi antiglicoproteine deci membrana trombocitului, față de complexul format din Hb-IIIa fata de glicoproteina Ib. Deşi aceşti auto-anticorpi ar funcţiona după modelul de opsonine prezenta lor accelereaza epurarea prin intermediul receptorului Fc al celulelor din sistemul monocit-macrofag, in special la nivelul splinei,

dar intr-o masură importantă și în ficat Tratamentul este diferit, complex şi uneori fără succes. Cand se ia o decizie terapeitica trebuie să avem in vedere varsta pacientului, alte boli asociate (hipertensiunea arterială, diabetul zaharat) si severitatea bolii.

Tratamentul corticoterapic se incepe cu o doza de 1 mg/kilocorp/zi. Cu acest tratament in 50% din cazuri se obţine remisiune partiala: cu cresterea trombocitelor la 100-150X10^9/litru 100000-150 000/mm^3) cu disparitia sindromului hemoragipar. Raspunsul bun apare in decurs de 6 săptămâni - 3 lùni. Corticoterapia, in cazurile care mentin o trombocitopenie moderata:40 - 60 x 10^9 litru (40000-60 000/mm^3) se menține la o doză de 30 mg-20 mg pe zi pana la 6 luni. Splenectomia se decide in cazurile rezistente la corticoterapie. Un argument in favoarea ei ar fi marcarea trombocitelor şi urmărirea traseului. Captarea, in special la nivelul splinei, ne oferă sansa unui succes terapeutic. Din totalul de paciënți propuşi pentru splenectomie, doua treimi vor beneficia de acest act chirurgical cu risc intrinsec de 0,7%. După splenectomie se poate ajunge la valori normale ale numarului de trombocite, care se pot mentine in remisiune completa toata viaţa; uneori, după un numar variabil de ani, apare recaderea bolii. La pacienţii care nu au raspuns la splenectomie si continua să aiba trombocitopenie moderata cu manifestări clinice, se poate relua corticoterapia cu o doză medie (20-10 mg/zi), perioade lungi de timp sub controlul ECG, a glicemici şi al valorilor tensiunii arteriale.

In cazurile rezistente la corticoterapie, când temporizăm splenectomia, sau pacientul nu este de acord cu acest act chirurgical ne gandim la un tratament cu imunosupresoare de tipul Imuran (azathioprina) o perioadă de cel putin 3 luni, la tratament se mai poate adauga vinblastin 5mg in perfuzie o dată pe saptamans x4 perfuzii, dupa care se poate vedea efectul acestui medicament. Mai sunt indicate pentru imunosupresie ciclofosfamida per or 50 mg pe zi x 2 luni, Daca dupa acest interval de timp numărul-de-trombocite ramane constant mic oprim medicamentul.

Un agent terapeutic incercat de aproape 10 ani, în cazurile rezistente este Danazolul (600->800 mg /zi), un androgen de sinteză dar administrarea la femei poate avea si efecte adverse minore. Un tratament recent constă in administrarea de gama- globulina intravenos în doză mare, în ideea blocadei temporare a sistemului monocit-macrofag.

Dacă am parcurs toate aceste indicații de tratament si le-am aplicat cu prudenţa, există un procent de cazuri (15) care rămân cu trombocitopenie moderată, fara sângerări grave. Aceste cazuri pot duce o viață normala 20-30 de ani. O alta situație clinică o constituie cazurile de purpură trombocitopenica autoimună cronică cu o evoluţie ciclica : debuteaza cu o trombocitopenie moderata, cu sangerari cutaneo-mucoase ce se remit spontan, dar la un interval de timp apare un nou val de peteşii și trombopenie in hemograma. Formele acestea ciclice sunt caracteristice vârstelor peste 50 - 60 ani şi sunt foarte rare.

Purpura trombocitopenică autoimună secundară

Purpura trombocitopenică autoimună ar putea precede cu câțiva ani alte manifestari din lupusul eritematos sistemic (LES), sau poate să apară ca o complicație în cursul bolii.
De asemenea, trombocitopenia este întâlnită şi în leucemia limfatică cronică precum si in limfoame, prin dislocarea măduvei sau prin proces autoimun.

Trombocitopenia apare astăzi în infectia cu HIV. Acest aspect clinic trebuie avut în vedere la grupul de indivizi cu risc mare de infecție: hemofilici politransfuzați, hemosexuali şi cei care folosesc droguri pe care intravenoasă. Trombocitopenia poate fi (1) simptomul initial al infectiei cu HIV, (2) o manifestare a bolii SIDA cu evolutie rapida.

Simptomele caracteristice pentru SIDA apar mai repede la purtătorii de HIV şi trombocitopenie, decât la grupul de indivizi purtatori de HIV fără alte semne. Astăzi este cunoscut ca infectia cu HIV are un loc special in patogenia trombocitopeniei imune.

Megacariocitele din măduvă sunt în numar-nomal, au anomalii morfologice infectarea cu HIV perturba maturarea megacariontului şi procesul de fragmentare a citoplasmei cu formarea de trombocite. In plus există autoanticorpi IgG anti-glicoproteine IIIa din membrana trombocitului. Particular este faptul cA, in prezenja acestei afectări a măduvei osoase, probabil la nivelul precursorilor, trombocitopenia este de 40 x 10^9 litru (40 000/mm^3), cu o durată de viată moderat redusa comparativ cu aceea a trombocitelor din P.TI. cronic, iar sechestrarea in ficat şi splină este absentă. Astăzi se incearca în această formă particulara de purpură trombocitopenică indusa de HIV tratamentul cu Zidovudine (AZT) 200 mg la 4 ore.

Purpura trombocitopenica alloimuna

In aceasta categorie se disting 2 entitaţi clinice:

1. purpura alloimuna neonatala:
2. purpura posttransfuzionala.

1. Purpura alloimuna neonatală Ca şi anemia hemolitica a nou-născutului purpura alloimună neonatala are la baza un mecanism de incompatibilitate materno-fetala. Incidenţa este de 1 la 5000 nasteri.

Trombocitopenia se datorează trecerii transplacentare a anticorpilor antiplachetari elaboraţi de mamă impotriva antigenelor trombocitare ale fătului, care in 50% din cazuri aparțin sistemului PI^{Al} și care sunt straine pentru organismul mater.

La scurt timp după naştere, nou-nascutul dezvolta un sindrom hemoragipar cu peteşii, echimoze, hematoame, iar numărul de trombocite este sub 35 000mm^3 . Manifestările sunt mai putin pregnante la prima nastere, insa ulterior ceilalti nou-nascuti vor fi sever afectati, cu leziuni neurologice grave.

Mortalitatea este de 15%. Daca se recunoaste acest tip de purpura se indica cezariana,

2. Purpura posttransfuzionala Este o purpură rara. care apare la o săptămână dupa o transfuzie de singe integral sau de masa trombocitara

Aceşti pacienți, de obicei femei dezvolta anticorpi impotriva unui antigen plachetar determinat genetic (PI^{Al}) şi prezent la 98% din populatie. Desi la 1 din 50 de transfuzati este absent acest antigen trombocitar, purpura este foarte rara şi producerea de anticorpi antiplachetari este trecătoare,

Numărul de trombocite este de obicei sub 10 000/mm^3 si trombocitopenia, poate persista 2-6 sapTamani.

Anticorpul anti-PI^{Al} pot fi detectati la cei mai multi dintre pacienți prin tehnici de aglutinare şi fixare a complementului. Totuşi, purpura posttransfuzionala se poate manifesta uneori şi la bărbați cu Ag PI prezent.

Se incearcă tratament cu corticosteroizi, dar severitatea trombocitopeniei cu risc mare de hemoragii impune deseori plasmafereza sau exsanguinotransfuzia

Perfuziile de masă rombocitară sunt ineficiente.

Purpura Trombopenica postmedicamentoasa

Purpura trombopenică post-medicamentoasă este mai frecventă decât purpura trombopenică idiopatica, autoimuna.

Medicamente implicate în declanşarea purpurei trombopenie sunt enuinerate în Tabelul XII-5.

Medicamente care provoaca trombocitopenia

I. Actiune le nivelul maduvei osoase (scaderea productiei de trombocite)

A.Medicamente citotoxice medulare

I. Severe: Citoxin – arabinosida ,Daunorubicin

2. Moderate: Busulfan, Metotrexat, 6-mercaptopurina, ciclofosfamida

3. Benigna: produse din Vinca Rosea (Vinblastin si Vincristin)

B. Diureticele tiazidice

C.Etanolul

D. Estrogeni

II. Distinctie de tip imun a trombocitelor

A.Suspiciune clinica plus date experimente evidente

1. Antibioticele: Sulfatiazolul, Novobiocinul
2. Alcaloizi din cinchona: chinidina si chinina
3. Alcaloizi.din alimente
4. Sedative: hipnotice, anticonvulsivante. Carbamazepin
5. Medicamente arsenicale foioase pentru tratamentul luesului
6. Digitoxina
7.Metildopa
8. Stibofen

B.suspiciune clinica

1 Aspirina
2. Clorpropamida
3. Clorochina
4. Chlorothiazide si hrdroclorothiazidele
5. Särurile de aur
6.Insecticidele
7. Sulfametoxazol, Sulfadiazina, Sulfamerazina, Sulfizoxazol, Sulfametazina, Sulfadimetoxina
8. Heparina

In grupul de purpure trombocitopenice prin distructie de tip imun, medicamentele pot scurta durata de viata a trombocitelor prin 2 mecanisme.

(a) medicamentul funcționează ca o haptená: pentru a-şi dobândi antigenicitate este necesar legarea de o proteină plasmatică (“curier'). Organismul va fabrica anticorpi împotriva complexului antigenic medicament + proteina. Rezulta complexe imune care se ataşează la suprafaţa trombocitelor prin intermediul receptorului Fc. Astfel, adsorbția complexelor este nespecifică, iar plachetele sunt “spectatori inocenti" în această reacţie.Trombocitele purtătoare de complexe imune sunt rapid indepărtate din circulaţie de către SRE (sistemul monocil-macrofag);

(b) medicamentul sau un metabolit al sau se leagă de trombocite la nivelul unui receptor specific. Organismul formează anticorpi împotriva complexului medicament + trombocit, care vor distruge numai trombocitele care au reactionat cu medicamentul, celelalte rămânând indemne.

Datele curente de laborator pot identifica agentul cauzal numai la 10% din pacientii cu purpură trombocitopenică post-medicamentoasă. Cea mai bună dovadă este indepărtarea medicamentului urmată de creşterea promptă a numărului de trombocite.

Purpurele post-medicamentoase au in tabloul clinic un sindrom hemoragipar cutaneo- mucos sever, cu petesii, hematoame, gingivoragii și chiar bule hemoragice .

In hemogramă numărul de trombocite este foarte scăzut 10-20 x 10^9/litru (10 000- 20 000/mm^3). Formula leucocitară este normală, cu o modestă leucocitoză. Se cercetează aspectul măduvei sternale care obligatoriu trebuie să aibă megacariocite crescute numeric, de aspect morfologic normal, intens trombocitogene cu citoplasma granulară azurofila. Prin prezenţa acestor megacariocite intens trombocitogene fara vacuole, distingem aspiratul medular din purpura acută postmedicamentoasa de aspiratul din purpura trombopenică imună idiopatică (PTI acut sau cronic) in care megacariocitele sunt crescute numeric, dar majoritatea sunt tinere.

Tratamentul include: intreruperea medicamentului,medicaţie de suport a volumului plasmatic, corticoterapie, plasmafereză şi chiar perfuzia cu masă trombocitară dacă trombocitopenia se menține severă.

In grupul de purpure trombocitopenice post-medicamentoase al căror prototip rămâne purpura imună indusă de chinidina, purpura post administrare de săruri de aur, se observa la 1- 3% din pacienții tratați. Etiologia imună este suspectata, dar nu este complet dovedită. Examenul maduvei osoase arată un număr normal de trombocite, cu uncle vacuolizari care ridică suspiciunea asocierii unei acțiuni centrale a sărurilor de aur. Debutul clinic si hematologic este brusc, asemănător cu cel din purpura indusă de chinidina, dar durata bolii este mult mai lungă. De aceea pe langă corticoterapie este necesar să ne gândim și la splenectomie.

Purpura trombocitopenică indusa de heparina este destul de frecventa (10%). Trombocitopenia este produsă prin atasarea la suprafaţa trombocitelor a complexelor imune, anticorp-medicament, urmat de distrugerea lor SRE.

In unele cazuri, heparina poate determina o aglutinare directa a trombocitelor, fiind posibila aparitia paradoxala a trombozelor (in 10% din cazuri).

Purpura trombotică trombocitopenică - PTT (Sindromul Moscowitz)

Reprezintă o afectare difuză a microcirculatici caracterizată prin debut acut cu febră (90%), simptome neurologice, purpura trombocitopenica, anemie hemolitică microangiopatică şi disfunctie renala severa. Cauzele acestui sindrom au rămas inca necunoscute.

S-a constatat o prevalentă pentru sexul feminin, vârsta medie fiind 39 ani. La aproape 1/3 din pacienti a fost consemnată prezenja in antecedente a unei infectii de tract respirator superior.

Au fost incriminati de asemenea numerosi factori: consumul de anticonceptionale orale si antibiotice, sarcina, intervențiile chirurgicale, vaccinurile, infecțiile cu meningococ, virusul Coxsackie tip B şi mycoplasme.

In patogeneza PIT ar putea fi implicat un raspuns imun anormal la variate antigene, avand in vedere asocierea acestui sindrom cu lupusul eritematos sistemic (LES), cu nivele scazute ale complementulul seric si cu prezenta unor fracţiuni ale complementului in leziunile vasculare. Succesul terapeutic recent, obtinut cu plasmafereză Sau exsanguinotransfuzie, condus la ipoteza că leziunile vasculare, sechestrarea trombocitelor şi microtrombozele vasculare s-ar datora unei depuneri de complexe imune in arteriole si capilare. Totuşi, existenţa complexelor imune circulante in PPT nu a putut fi confirmata.

Leziunile anatomo-patologice caracteristice sunt reprezentate de trombii hialini care determină obstructia arteriolelor şi capilarelor din toate tesuturile organismului. Deşi în vecinătatea leziunilor poate exista o proliferare endoteliala reactia inflamaţiei vasculare este absenta. Se presupune că materialul hialin ar fi constituit din plachete agregate, inconjurate de straturi subtiri de fibrină.

Clinic, sindromul hemoragipar se manifestă prin: petesii, echimoze, sângerări gastro-intestinale, hematurie, hemoragii retiniene. Simptomele neurologice includ:cefalee, vertij, convulsii, pareze, afazie. Disfuncţia renală este progresivă cu proteinurie, hematurie, retenție azotată.

Aproape toţi pacienţii au la debut un numar de trombocite sub 50 000/mm^3.

Frotiul de sange periferic arată o modificare specifică unei anemii hemolitice microangiopatice cu fragmente de eritrocite (schistocite), hematii in coif şi normoblasti. De obicei există o reticulocitoza marcată, iar testul Coombs este negativ. Initial datele de laborator nu sugerează o CID, dar odata cu apariția insuficientei hepatice şi renale acesta devine evidenta.

Sindromul hemolitic uremic (Gasser) al copiilor si tinerilor este asemanator cu PTT, dar semnele si simptomele neurologice sunt rare.

Mortalitatea in PTT este foarte ridicată 50 - 80%). Eficacitatea tratamentului este dificil de evaluat. Splenectomia, dozele masive de corticosteroizi,antiagregantele piachetare au fost folosite cu rezultate viabile.

Recent, plasmafereza şi exsanguinotransfuzia au imbunatatit prognosticul acestor bolnavi.

Transfuzia de trombocite

Este posibil ca in unele cazuri de trombocitopenii severe, să se ridice, temporar, numărul de trombocite prin transfuzii de trombocite. Indicaţia principala pentru transfuzia de trombocite este un sindrom hemoragic sever, prin productie scazut de trombocite. Daca trombocitopenia este rezultatul distrucţiei sau sechestrării excesive, răspunsul la transfuzia de trombocite este nul. Transfuzia de trombocite se face sub forma de concentrat trombocitar, controlat biologic (testarea pentru HIV) si trebuie administrat foarte repede dupa recoltarea de la donator, in cel mult 5 zile.

Scopul transfuziei cu concentrat trombocitar este cresterea numărului de trombocite la 20 – 10^9/litru (20 000/mm^3), deoarece o hemoragie severă este rară peste acest nivel. Transfuzia de masă trombocitară ar mai putea fi indicată la un pacient cu trombocitopenie inainte de un act chirurgical, care se impune ca urgenţă.

SINDROAME HEMORAGIPARE PRIN ANOMALII ALE COAGULĂRII

Defectele in etapa coagularii pot fi conventional impartie in doua categorii

Prima si cea mai important este aceea in care sunt grupati bolnavii cu defecte dobândite ale anumitor factori (protrombina, factorul VII, IX, X), care apar in urma tratamentului cu medicamente anticoagulante, prin deficiente ale vitaminei K si ca rezultat al bolilor hepatice. A doua, cu un număr mai mic de bolnavi, este cea a pacienților cu defecte congenitale ale unuia din factorii coagulării (80% sunt cu deficienţa factorului VIII, 10-20% cu deficienta factorului IX si 1% cu diferite defecte congenitale ale factorilor coagulării).

HEMOFILIA A, DEFICIENTA FACTORULUI VIII

Hemofilia tip A este un sindrom hemoragipar sever care apare la copii de sex masculin și este dependent de transmiterea unei gene anormale legata de cromozomul X. Termenul de hemofilie a fost introdus prima dată de Schönlein in 1839, deşi boala era cunoscuta incă din antichitate, fiind descrisa de Rabbi Simon ben Gamaliel in Talud, de Maimonide (medic și filozof evreu), de Albucasis, medic arab (în secolul al 12-lea). Addis (1911), Patek si Ravlor in 1937 au demonstrat prezenţa unui factor activ antihemofilic in plasma normal.

Patogeneză şi manifestări clinice

Deficienta de factor VIII apare din anomalia genei factorului VIII, gena care se afle situntă la vârful bratului Lung al cromozomului X. Gena anormalá este caracterizată prin variate defecte în secventa nucleotidelor, de la simple mutaţii punciforme până le deleții importante,

Boala afectează aproape numai sexul masculin (XY) deoarece cromozomul normal X la femeile heterozigote este capabil să asigure o productie suficientă de factor VIII (X^hX).

Incidenja hemofiliei A la bărbaţi este de 1la 10 000. Daca hemofilia tip A apare la femei, ele sunt homozigote pentru gena anormală (X^h, X^h) sau heterozigote (X^h X). dar cromozomul X normal nu este capabil de producerea unei cantitati suficiente de factor VIII.

Astfel, fetele care rezultă din cuplul tata cu hemofilie A şi mama sanätoasa vor fi obligatoriu purtătoare de gena anormala(X^h), deoarece ele moştensc un cromozom X anormal: pe de alta parte baietii sunt intotdeauna sanatosi deoarece la a doua generație mostenesc de la tatal bolnav cromozomul Y. Femeia din generația II, purtătoare de tară hemofilică va transmite defectul genetic

la jumatate din copil de sex masculin si la jumatate din fete care vor fi purtoare. Femeile purtatoare, daca se căsătoresc cu barbati normali vor naşte unul din baieti cu defect, sau dacă copiii sunt fete, ele vor fi purtătoare.

In generația I dacă o femeie purtatoare se căsătoreşte cu un bărbat hemofilic, toate fetele vor fi purtătoare, dar baietii vor fi normali. Astfel, este foarte important la un bărbat care sangereaza, sa se cunoasca antecedentele heredo-colaterale din partea ambilor parinți. De reținut, este faptul mai nou descoperit, că 1/3 din hemofilici cu deficiența de factor VIII, nu au antecedente heredo-familiale; este vorba de o mutație spontană în gena responsabila de producţia de factor VIII.

Factorul VIII este o proteină cu greutate moleculară de 80 000 daltoni. In plasma factorul VIII este găsit numai pe suprafata factorului von Willebrand cu rol de ,carrier". Factorul VIII are activitate coagulantă numai când se combină cu acest factor von Willebrand. Factorul VIII este sintetizat de celula parenchimului hepatic.

Concentraţia lui este de 10 ug/l, fiind foarte susceptibil la proteoliză, de aceea este denumit şi **factorul labil al coagularii.** Durata de viață este 8-12 ore. Activitatea factorului VIII este masurată biologic prin capacitatea sa de a acţiona drept cofactor al factorului IX. Factorul von Willebrand, purtătorul lui in circulatie, poate precipita cu anticorpi specifici, de aceea acest factor mai este cunoscut su numele de **antigen al factorului VIII** (factor VIII-Ag).
In hemofilie cantitatea de factor von Willebrand este normala, desi activitatea coagulanta a factorului VIII este depresata. Observatia este importanta pentru descoperirea femeilor purtatoare de tara hemofilica, care vor avea o activitate coagulanta pe fiecare unitate de factor von Willebrand redusa la jumatate comparativ cu indivizii normali.

Diagnosticul de hemofilie tip A se poate pune prenatal prin analiza ADN fetal sau a sângelui fetal. ADN fetal este obținut din vilozitățile chorionului în a 9-a săptămână sau prin amniocenteza intre a 13-a şi a 16-a săptămână. Analiza ADN fetal se face după o metodă directă folosind un model de ADN apropiat sau, indirect, prin metoda de fragmentare și analiză a fiecărui segment al ADN.

Sangele fetal, recoltat mai târziu în evolutia sarcinii in a 18-20-a săptămână, este cercetat pentru activitatea coagulantă a factorului VIII şi prin metode de reactivitate imunologică.

Aspecie clinice.

Aspectul clinic caracteristic in forma severă de hemofilie este apariţia spontană de hemoragii in articulaţii şi mai puțin in muşchi. Normal, hemostaza necesită o activitate de 25% a factorului VIII. In funcție de activitatea factorului VIII se disting următoarele forme de hemofilie:

Forme severe	1% activitate factor VIII

Forme medii	1-5% activitate factor VIII
Forme usoare	5% activitate factor VIII
Forme foarte uşoare	5-25% din activitatea factorului VIHL (descoperite numai prin sângeräri mari după traune minore sau in timpul intervenţiilor.chirurgicale)

Majoritatea pacientilor cu hemofilie au concentratia factorului VII sub 5%.

Simptomul tipic cu care se prezinta pacienţii la medic este durerea la nivelul ariei afectate de hematom sau sângerarea intraarticulară.

Frecvenţa locurilor de săngerare la 207 hemofilici (adoptat după Rizza, 1977)

Leziuni sau operatie	**Procentul**
Hemartroze	79
Hematoame in muschi	25
Hematurie	
Epistaxis	
Sangerari gastrointestinale	
Extracţii dentare	6
Acte chirurgicale majore	

Sindromul hemoragipar se constituie, de obicei, după o perioadă de ore sau zile de la traumatism. In formele severe, manifestările sunt aparent spontane, nelegate de o leziune cunoscuta. Hematoamele pot fi foarte mari uneori, determinand compresie venoasa (pseudoflebita), necroza masei musculare sau afectarea ischemică a nervului. Bolnavii cu hemofilie deseori dezvolta neuropatie femurala, datorita compresiei exercitate de hematoamele retroperitoneale. Unele hematoame se calcifica şi pot lua un aspect pseudotumoral.

Hemartrozele afectează articulaţiile mari: genunchi, coate, glezne, umar. Prezenta sângelui în articulatie declanşează inflamația sinovialei, iar sângerările repetate erodeaza cartilajul articular şi determină osteoartrita, fibroză articulara cu anchiloza şi reducerea funcţionalităţii articulare. Masele musculare vor fi atrofiate ca un fenomen secundar.

Foarte importantă este sangerarea orofaringiană şi cea de la nivelul sistemului nervos central. Aceasta din urmă se poate manifesta in lipsa unui traumatism cranio-cerebral in antecedente sau a unei leziuni specifice si reprezintă 20-30%-din cauzele de deces.

Diagnostic

Diagnosticul bolii este sustinut de aspectul clinic și de datele de laborator, timpul de sangerare normal, timpul de activare parţiala a tromboplastinei (TPT) prelungit timpul de protrombina timpul Quick) normal. Timpul global de coagulare este prelungit net, peste 5-11 minute, Numarul de trombocite este normal Diagnosticul este confirmat prin determinarea specifica a activitatii coagulante a factorului VIII.

In hemograma pacientului se poate descrie o leucocitoza moderată şi o anemie moderatá hipocroma. feripriva

Tratament

Astazi, in tratamentul pacienţilor cu hemofilie s-au produs modificari importante, care au îmbunătăţit longevitatea cazurilor şi au redus din aspectul infirmizat al bolii. Mulți hemofilici, indiferent de forma de exprimare a bölii, pot avea o inserţie socială adecvată.

Este important ca: 1) pacientul sa-şi recunoască semnele care preced sangerarile şi să evite traumatismele. Semnul cel mai fidel este durerea articulară sau muscular insotita de o alterare a starii generale. In acest moment pacientul trebuie să se prezinte la medicul avizat, iar acesta va incepe tratamentul; 2) din medicatia bolnavului sa fie indepartată aspirina, pentru că ca poate modifica functia trombocitelor cu agravarea sângerării; 3) orice interventie chirurgicala (extractie dentară, ulcer duodenal perforat, apendicita acuta) să fie supravegheată de medicul hematolog.

Produsele standard pentru tratamentul hemofiliei A sunt:

-crioprecipitatul care contine jumatate din activitatea factorului VIII din plasma proaspata. Este folosit in orice conditie, fiind găsit in staţiile de recoltare şi conservare a sângelui, chiar si in orase mai mici regionale. Se administreazi intravenos;

- concentratul de factor VIII, preparat de la mulți donatori; se prezintă ca o pudra liofilizata. El poate fi pastrat acasă la pacient, in frigiderul obişnuit, la 4°C Redizolvarea lui se face cu putin inainte de administrare intravenoasa.

Pentru a reduce riscul infectarii cu HIV, datorita acestui factor VIII recoltat de la un mare numar de donatori (500-5000 donatori), astazi, produsul final este tratat prin încălzire la 80"C timp de 72 ore, proces care distruge virusul.

Fiecare unitate de factor VIII, care este prezenta în 1 ml de plasmă normală, va creste nivelul factorului VIII din plasma pacientului cu 2%/kilocorp. Infuzia cu factor VIII se face continuu sau de doua ori pe zi, pentru a mentine o concentraţie de factor VIII activă. Perfuzarea se face 3-4 zile, în funcție de parametrii de laborator.

In formele medii şi uşoare de hemofilie este indicat tratamentul cu Demopresin (DDAVP); daca pacienții trebuie să suporte o extracție dentară. preventiv, se indică EACA (acidul aminocaproic) 4-6 g de 4 ori pe zi. Acesta este un medicament puternic antifibrinolitic care inhibă

activatorul tisular al plasminogenului, eliberat in cursul extracției dentare, şi care ar putea impiedica formarea cheagului şi ar favoriza extinderea sângerării. Este necesară spitalizarea bolnavului. Tratamentul cu EACA este mentinut 72–96 ore. EACA este indicat si in tratamentul hematuriei pentru a anihila acțiunea urokinazei

Complicatii legate de tratament

1. Hepatita acută virală de tip B sau non A-non B (C) cu posibilitatea de cronicizare până la tabloul de hepatită cronică activă sau ciroza.

2. Riscul ca, in timp, să dezvolte sindromul de imunodeficienţă.

3. Dezvoltarea de inhibitori ai factorului VIII la 5-10% din hemofilici.

Anticoagulanții dobânditi sunt anticorpi de tip IgG; formarea lor se poate preveni prin doze moderate de Prednison per os, pentru perioade scurte de timp, 4-6 săptămâni. Prezenta acestor anticorpi impune creşterea dozei de factor VIII. Un procent mic de hemofilici, politransfuzati, uneori in urgenţă, cu sánge proaspat, controlat biologic (HIV, AgHBs), pot prezenta anemie hemolitică prin izoimunizare, cu test Coombs pozitiv anti A sau anti B.

Pacientii cu hemofilie, in formă severă sau medie, trebuie in mod obligatoriu sa se prezinte la un consult ortopedie, pentru a preveni instalarea unor deformatii articulare infirmizante. Ei trebuie sa beneficieze permanent de un program de “gimnastica adaptata la hemofilie" pentru menţinerea masei musculare in stare funcionala.

Un ultim aspect este legat de descoperirea în familiile de hemofilici a tuturor femeilor purtătoare de tară hemofilică printr-o reactie de analiză a ADN-ului (fragmentare urmată de analiză cromatografică). O descoperire mai recentă, reacția polimerazei (polymerase chain reaction) (PCR) a permis amplificarea genomului ADN şi depistarea genei anormale. Această reacție este larg utilizată, atât la femeile posibil purtătoare de tară, cât şi pentru diagnosticul precoce de hemofilie, în primele săptămâni de viață intrauterină, prin analiza biopsiei din vilozitățile corionului.

O educație sanitară de calitate în familie şi la şcoală oferă un sprijin psihologic deosebit pentru aceşti bolnavi sau pentru femeile purtătoare de tară, care trebuie să-şi avertizeze soțul de anomalia genetică pe care o poartă.

DEFICIENTA DE FACTOR IX (HEMOFILIA B, BOALA CHRISTMAS)

In 1952, Biggs a descris hemofilia prin deficienta factorului IX.

A fost denumită boala Christmas, după numele pacientului la care s-a descoperit această formă de hemofilie. Anomalia reprezintă 20% din totalul cazurilor de hemofilie, observindu-se la 1

la 100 000 de nou-nascuti de sex masculin. Factorul IX este o proteină cu un singur lant de polipeptide cu greutatea de 55 000 de daltoni.

Este convertit in formă activă de factorul XI (forma activă) sau de complexul format din factorul VII si factorul tisular (din calea extrinseca). Factorul IX va activa factorul X in complex cu factorul VIII. Este sintetizat in ficat dependent de vitamina K. Diagnosticul de boala Christmas este pus când nivelul factorului IX scade sub 1%. Are o durată de viaţă mai lungă de 24 ore. Deficiența de factor IX este corectată printr o administrare de plasmă proaspătă sau printr-o fractiune, plasmatica bogata in complexul de protrombina (sub aspect liofilizat). Administrarea se face intravenos. Complicatiile induse de tratament sunt hepatita sau SIDA. Perfuzarea concentratul de complex protrombinic poate provoca o activare à Sistemului de coagulare, existând pericolul trombozei. Administrarea de plasma proaspata cu factor IX se poate face profilactic si la domiciliu. La aceşti pacienți, preoperator se adauga la concentratia protrombinei doze mici de heparină, care va activa antitrombina III si va reduce astfel hipercoagulabilitatea

BOALA VON WILLEBRAND (COMPLEXUL FACTOR VIII- FACTOR VON WILLEBRAND)

Boala a fost descrisa in 1920 de von Willebrand la o serie de familii, in insulele din Marea Baltica. Este cel mai frecvent sindrom hemoragipar ereditar (1 caz la 800-1000 indivizi sanatosi).

Factorul von Willebrand este o glicoproteină prezentă în plasmă, formala din multimeri heterogeni cu greutate moleculară foarte diferită, între 400 000 şi 20milioane. Precursorul factorului von Willebrand este secretat de celulă endoteliala şi de megacariocite.

Funcţiile factorului von Willebrand sunt: 1) favorizează adeziunea trombocittelor la zona subendotelială a vasului; 2) este purtătorul plasmatic pentru factorul VIII, 1 moleculă de factor VIII fiind asociată cu 1.000 de subunităţi de factor von Willebrand. Concentrația plasmatică a factorului von Willebrand este de 10 mg/l.

Factorul von Willebrand prezintă la nivelul moleculei sale 2 situsuri de legare: unul pentru colagenul din structura subendoteliala, celălalt pentru atasarea de un receptor specific de pe membrana trombocitului. Modul de transmitere este autosomal dominant, gena implicată fiind situată pe cromozomul 12. Anomaliile factorului von Willebrand pot fi cantitative, dar şi calitative.

Diagnostic

Diagnosticul bolii von Willebrand se pune pe o combinație de teste: 1) timp de sângerare prelungit; 2) reducerea concentratiei plasmatice a factorului von Willebrand, 3) absența agregări trombocitelor in prezenta antibioticului ristocetină;4) reducerea activitații coagulante a factorului VIII. Timpul de sângerare prelungit o diferentiaza de hemofilia A si B.

Boala von Willebrand cu incidență crescută in populatie se poate manifesta si la femei şi la bărbați. Manifestarile clinice variază cu tipul de boală; ele pot fi usoare sau severe, In general sunt prezente sângerările spontane la nivelul mucoaselor, mai rar la nivelul tegumentelor şi nu se descriu hemartroze, ca in cazul hemofililor. Hemoragie este repetata, uneori severă, şi conduce la anemie feripriva.

Medicaţia contraceptivă poate creste nivelul plasmatic al factorului von Willebrand.

Este recunoscut faptul că traume minore (extracţii dentare) pot induce sângerări prelungite. In formele homozigole de boală, intraoperator, pacientul sau pacienta poate sângera prelungit. Mama cu deficienţă de factor von Willebrand sângerează la naştere şi post-partum. Acest fapt atrage atentia pacientei şi medicului, iar o simpla determinare de timp de sângerare, care este prelungit, in prezenta unui TPT normal şi a unui timp Quick normal poate confira o boala von Willebrand, forma medie.

Astăzi, datorită analizei prin teste speciale, se pot diferenția mai multe forne de boala: tipul I, tipul IIA, B, C şi tipul III (vezi fig. 12.9). Aceasta diferenţiere are la bază: determinarea factorului VIII (ataşat de suprafaţa factorului von Willebrand), determinarea configurației multimerilor din compozitia factorului von Willebrand (de greutate mare, medie sau mica), determinarea componentei antigenice a factorului von Willebrand şi determinaren cofactorului pentru ristocetina.

In tipul I de boala von Willebrand sunt reduse toate aceste segmente care compun complexul factor VIII--factor von Willebrand: factorul VIII, factorul von Willebrand indiferent de greutatea multimerilor, cofactorul ristocetină şi componenta antigenica. Tipul I este cea mai comuna forma de manifestare a bolii. Componentele complexului sunt normale functional, dar reduse cantitativ.

In timpul II A, in structura factorului von Willebrand lipsesc multimerii de greutate mare si medie ca şi cofactorul pentru ristocetina. Curba de agregare in prezența ristocetinei lipseşte. Factorul VIII si componenta antigenică pot fi normale sau scăzute.

In timpul II B lipsesc atat multimerii cu greutate moleculară foarte mare cat şi bratul antigenic, dar cofactorul pentru ristocetina este prezent si apare curba de agregarea trombocitelor in prezenta ristocetinie. Factorul VIII poate fi normal sau scazut.

In tipul II C lipsesc multimerii cu greutate mare, bratul antigenic si cofactorul pentru ristocetina. Factorul VIII poate fi normal sau scazut Multimerii prezinti au defect calitativ.

In tipul III există o profunda reducere a factorului VIII, a multimerilor din factorul von Willebrand, a antigenului şi a cofactorului pentru ristocetina. Tipul III constituie o formă severă, homozigota, nivelele acestor factori fiind sub 10%.

Tratament

Există două opinii. Una este aceea de a folosi crioprecipitat, care este bogat in factor von Willebrand. El poate fi administrat pre-, intra- și postoperator. Este folosit rapid de purtătorii acestui defect congenital de coagulare (1 perfuzie pe zi).

Menoragiile sunt tratate cu perfuzii cu crioprecipitat şi pilule contraceptive. A doua opțiune terapeutică este administrarea de Desmopresin (1-desemino-8-D-arginm vasopresina), un analog al vasopresinei, care poate creşte nivelul plasmatic de factor von Willebrand şi este foarte indica in tipul I de boală. Este folosit cu precauţie in tipul IIB (provoacă tromboze prin agregare de trombocite(şi este ineficient in tipul III homozigot. Factorul von Willebrand poate fi absorbit pe suprafaţa unor celule tumorale, fapt demonstrat in macroglobulinemia Waldenström şi in tumora Wilms.

Şi in boala von Willebrand, ca si in hemofilia de tip A, există posibilitatea unui procent mare (50%) de apariţie a anticorpilor antifactor von Willebrand. In aceste condiții se indică corticoterapia 40 mg 2 x 6 saptamani.

Există şi cazuri dobândite de boală von Willebrand, determinate fie prin anticorpi antifactor von Willebrand la politransfuzați, fie prin tumori limfoide sau tumoră Wilms care absorb selectiv la suprafaţa lor multimerii factorului von Willebrand. Nu există un tratament specific; este necesar controlul afecţiuni de bază.

SINDROAME HEMORAGIPARE PRIN DEFICIENTA DOBÂNDITĂ A FACTORILOR DE COAGULARE

ANOMALII ALE FACTORILOR DE COAGULARE PRIN DEFICIENTA VITAMINEI K

Vitamina K este o vitamină liposolubilă care joacă un rol important in hemostază. Ea nu este sintetizată de mamifere, dar se găseşte larg răspândită in plante. Este produsă de flora bacteriană endogenă aflată in intestinul subţire şi in colon. După absorbție și transport, vitamina K este convertită la nivelul microzomilor hepatici intr-un epoxid activ şi sub această formă acţionează ca un cofactor in carboxilarea enzimatica a acidului glutamic din proteine complexului protrombinic (II, VII, IX, X) care vor fi capabile astfel să lege ionii de calciu ($Ca^{==}$)

Există mai multe cauze de deficienţă de vitamina K:

- aport alimentar insuficient;
- sindrom de malabsorbţie,
- boli hepato-celulare cu scăderea rezervelor de vitamina K.
- deficienta neonatală, datorită depozitelor scăzute la copil in a 2a, a 3a zi de viata

- afectiuni ale caror biliare cu absenta sarurilor biliare necesare pentru absorbţia vitaminei K (ciroza biliara, obstructii ale cailor biliare, drenaj postoperator).
- administrarea de antibiotice cu spectru larg care reduc flora intestinala
- administrarea de antagonişti ai vitaminei K care inhibă acnea reductazei la nivelul ficatului (anticoagulante cumarimce Trombostop)

Doza necesară de vitamina K este foarte mică: 0,03 ug/kg/zi. Depozitul de vitamina K al unui organism sanatos este suficient pentru 30 de zile. Dacă bolnavul are o afectiune severă, acest depozit scade in decurs de 7-10 zile. Administrarea parenterala de 10 mg de vitamina K restabileşte nivelul din ficat şi permite o producție normală de proteine din complexul protrombinic în decurs de 8–10 ore.

Deficienta de vitamina K influenţează următorii factori ai hemostazei:
-factorul II (protrombina);
-factorul VII
-factorul IX;
-proteina C şi proteina S.

Primii care se reduc sunt proteina C (factor antitrombotic şi fibrinolitic) şi factorul VII (din sistemul extrinsec al coagulării).

Deficienta de vitamina K duce la apariţia unui sindrom hemoragic sever, care poate fi tratat cu sânge proaspăt integral, cu plasmă proaspătă şi cu administrarea intravenoasă de vitamina K.

In laborator, deficienta de vitamina K este urmărită prin modificarea timpului de protrombină. Daca deficiența este severă, se va modifica şi timpul parțial de tromboplastină (TPT) prin lipsa factorului IX.

In timpul administrării terapeutice de anticoagulanti orali, timpul de protrombina (timpul Quick), exprimat in secunde, trebuie să fie mai mare de 2 ori fata de valoarea martorului, cu variații de +/-2s. Dacă la martor timpul, de protrombină este de 12" prin administrarea de anticoagulant el trebuie șa fie 2x12=24"(+/- 26": 22") Este zona ideala de hipercoagulabilitate.

Anticoagulantii cumarinici inhiba comparativ efectele vitaminei K prin blocarea acţiunii reductazei.

ANOMALIA FACTORILOR DE COAGULARE DIN BOLILE HEPATICE

Ficatul este locul central in sinteza şi metabolismul unor proteine ale coagularii. Insuficienta lui funcţională cauzeaza hemoragii medii sau severe.

Cauzele de sangerare in bolile de ficat sunt prezentate in tabelul XI-7.

Cauzele de sangerare la bolile de ficat

I. Factori anatomici:

A. Hipertensiune portală:

- varice esofagiene;

-splenomegalie trombocitopenie secundară.

B. Ulcerație peptică.

C. Gastrite.

II. Anomalü functionale hepatice:

A. Scaderea sintezei de proteine procoagulante: fibrinogen, protrombiná, factorul V, VII, X, IX

B. Scăderea sintezei proteinei C, a proteinei S şi a antitrombinei III (apare o stare de hipercoagulabilitate cu favorizarea CID).

C. Scaderea absorbtiei şi a metabolismului vitaminei K.

D. Sistemul monocit-macrofag din ficat este insuficient funcțional şi nu are capacitatea de epurare, ceea ce conduce la apariţia de:

a. coagulare diseminata intravasculară (CID):

b. fibrinoliza sistemică (primara).

III. Complicaţiile tratamentului in bolile de ficat

A. Perfuzarea excesivă n bolnavului cu spălarea trombocitelor şi diluarea factorilor de coagulare.

B. Infuzie de concentrat de complex protrombinic in exces cu consumul de factori proprii

C. Administrarea de heparină.

Schema de explorare a unui pacient cu boală de ficat şi sindrom hemoragipar complex este cea generală. Vor fi modificate timpul de protrombină- timpul parţial de tromboplastină şi numărul de trombocite (trombopenie medie sau severă).

Valoarea fibrinogenului poate fi normală sau scăzută.

În formele severe de boală hepatică cu desfiinţarea anatomică şi funcţională a sistemului monocit-macrofag apare tabloul complet, clinic şi de laborator, al coagulării intravasculare, formă acută sau subacută.

Tratamentul ideal al sindroamelor hemoragice din bolile de ficat este administrarea de plasmă proaspătă, care conține toți factorii de coagulare. Totuşi.există riscul apariției encefalopatiei portale şi a supraîncărcării hidrosaline. Administrarea de crioprecipitat este indicată, dar cu rezerve privind posibilitatea de infectare cu virusul HIV și cu virusul hepatitei. Se mai poate indica, dacă avem evidența de Laborator a scăderii fibrinogenului, preparat concentrat de fibrinogen. Este obligatorie administrarea parenterală de vitamina K.

Un sindrom hemoragipar dintr-o afecţiune hepatică are o evolutie dramatica, fiind depăşite toate mecanismele hemostazei, de aceea este necesară o monitorizare atentă a pacientului in serviciile de terapie intensivă.

COAGULAREA INTRAVASCULARA DISEMINATA
BOALA TROMBO HEMORAGICA CONSUMITIVA
COAGULOPATIA DE CONSUM

Coagularea intravasculară diseminată (CID) constituie o dezordine complexă a hemostazei, în care există o activare generalizată a fazei de coagulare, urmată de o marcată activare a fazei de fibrinoliza.

Clinic, sunt prezente la acelaşi bolnav două aspecte opuse ale lemostazei: tromboza şi sângerarea, de aceea boala mai este numiti si diateza trombohemoragica de consum.

Manifestările clinice pot fi acute, severe sau pot avea o evoluţie subacută cronica.

Deşi numărul de afectiuni care se pot complica cu CID este mare, cele mai importante cauze sunt reprezentate de sindroame obstetricale, infectiile bacteriene, neoplaziile şi traumatismele cu mari distrucţii tisulare.

Conditii clinice asociate cu congularea diseminata intravasculara

1.Infectii bacteriene: meningococ, stafilococ, streptococ.
2. Sindroamele obstetricale: dezlipirea de placentă, embolie cu lichid amniotic, fat mort reținut intrauterin, avort în trimestrul II prin soluție salina, eclampsie.
3.Neoplazii: leucemia acută promielocitară, adenocarcinoame mucinoase.
4. Hemoliza: hemoliza intravasculara.
5.Embolia grăsoasă: fracturi osoase cu depasiri de fragmente, intervenţii ortopedice laborioase.
6.Distructi tisulare: traumatisme, arsuri intinse, în pături de insecte, plăgi prin impuscare
7. Boli hepatice: ciroza hepatica.
8.Leziuni endoteliale: anevrism de aortă, sindrom hemolitic uremic, glomerulonefrita cacuta
9. Malformatii vasculare; sindrom Kasabach-Merritt (hemangiom cavernos gigant).
10.Alte condiţii clinice mai rare: malarie, Kala-Azar, histoplasmoza acutā, boli virale (arboviroze, varicela, rubeola, variola).

În această afecţiune activarea prin contact a factorului XII declanşează cascada enzimatică a coagularii, urmată secvențial de fibrinoliza, care are drept scop liza trombosului apărut intr-un teritoriu vascular. Deoarece, în anumite condiţii factorul XII activează şi plasminogenul, el reprezintă un “trigger", atât pentru coagulare, cât si pentru fibrinoliză. Cele două procese se succed printr-un sistem de balanță.

Uneori, în funcţie de factorul declanşant, unul dintre fenomene poate deveni dominant. Ca urmare a fibrinolizei apar în circulaţie produşi de degradare ai fibrinei (PDF), care vor fi epurați de sistemul monocit-macrofag şi de fluxul sanguin.

Cand sistemul monocit-macrofag este depăşit functional sau este, desfiinţat anatomic, sau când fluxul sanguin este intreținut, apare un exces de PDF in microcirculatie.
PDF inhiba polimerizarea monomerilor de fibrina A și B, care vor rämane in circulație și vor constitui o suprafață ideală de contact pentru activarea factorului Hageman (paracoagulare).

Astfel, factorul XII va fi activat atât de PDF aflate in exces, cât și de monomerii de fibrina. Se continuă activarea coagulării şi fibrinolizei cu consumul factorilor de coagulare și fibrinoliza, precum si al trombocitelor care agregă la trombii de fibrină din microcirculatie. In concluzie, pe de o parte are loc activarea coagulării în microcirculație cu tromboze și ischemie și, pe de alta parte, activarea fibrinolizei şi scăderea numărului de trombocite cu sângerare difuza

Manifestările hemoragice pot fi uşoare sau moderate în forma cronică şi extrem de severe in CID acut cu letalitate ridicata. In CID acut, hipotensiunea este, de obicei, prezentă şi se agravează progresiv daca nu este tratata.

Unii pacienti cu CID cronic sunt asimptomatici deoarece se pastreaza balanta între coagulare şi fibrinoliză, iar productia de trombocite şi de factori ai coagulării este suficienta pentru a compensa consumul acestora.

Datele de laborator includ trombocitopenie, anemie hemolitica microangiopatica (frotiu cu schizocite, hemantii în coif: normoblaşti), timp Quick, TPT, TT prelungite, scăderea concentrației plasmatice a fibrinogenului, precum şi prezența in exces a PDF, ca expresie a fibrinolizei secundare.

Tratamentul CID trebuie să cuprindă:
1) incercarea de a corecta cauzele reversibile ale CID;
2) controlul manifestărilor cardinale ale bolii: tromboza şi sângerarea;
3) profilaxia recurențelor in cazul unei CID cronice.

Tratamentul este variabil in funcție de manifestările clinice şi de afecțiunea care a generat CID. In sindroamele obstetricale şi in infecțiile bacteriene, boala de bază este uşor de corectat, pe când în tumorile metastatice acest lucru este imposibil.

Cand tabloul clinic este dominat de sângerare, pacienţii vor, primi plasmă proaspătă, care conține toți factorii coagulării, precum şi masă trombocitară.

Tratamentul cu heparina este incă controversat, deşi, teoretic, inhibă toate periproteazele (trombină, plasmina). Astfel, dispare suportul enzimatic al coagularii şi fibrinolizei. Pacienţii cu forme uşoare de CID vor fi trataţi numai cu plasmă proaspătă sau cu administrare de heparina.

CID cronică nu răspunde la anticoagulantele orale, dar poate fi controlată prin administrarea de lungă duratä a heparinei.

Cu toate progresele obținute in intelegerea fiziopatologiei, există incă putine dovezi că tratamentul ar putea modifica evoluţia naturală a afecţiuni de bază.

Tratamentul va echilibra bolnavul, va preveni tromboza masivă sau exsanghinarea şi va permite instituirea unei terapii definitive.

Tratament	Scop	Forma de tratament	Rezultate
Tratamentul bolii de baza	Indepartarea cauzei CID	Specifica pt boala (ex. Antibiotice in infectiile bacteriene), cezariana pt fat mort retinut	Variabile
Reechilibrare		Perfuzii cu solutii saline, sange proaspat cu urmarirea parametrilor de laborator uzuali	
Agenti antitrombotici	Blocheaza microtromboza	Heparina adm continuu in perfuzie 1000 Ui/h sau 5000 Ui la 4h	Previne formarea de trombi de fibrina si asigura reperfuzarea renala
Transfuzii	Restabilirea potentialului hemostatic	Masa trombocitara, ceioprecipitat, sange proaspat de 48h care contine factor VIII	Creste nr de trombocite si concentratia fibrinogenului cu 50%, diminueaza sangerarile
Inhibitori ai fibrinolizei	Blocheaza producerea PDF	Acidul epsilom aminocaproic (EACA) 4-6g/zi timp de 48h	Opreste sangerarile(este periculos sa-l indicam daca nu s-a adm anterior

			heparina pt tratarea microtrombozelor)

FIBRINOLIZA PRIMARĂ (PURPURA FIBRINOLITICĂ).

Pacienţii cu deficit de α2-antiplasmină vor prezenta o fibrinoliză excesiva, cu hemoragii recurente după traumatisme şi intervenţii chirurgicale. De asemenea, bolnavii cu ciroză hepatică vor epura mai lent din circulaţie activatorul tisular al plasminogenului (AT-P) cu fibrinoliză sistemică.

Rar, pacienţii cu tumori, cum ar fi carcinomul de prostată metastazant, vor dezvolta un sindrom hemoragic difuz datorită fibrinolizei primare şi nu coagulării vasculare diseminate. Elementul principal de diagnostic este reprezentat de scăderea disproporţionată a fibrinogenului față de numărul de trombocite normal, de timpul Quick şi TPT relativ normale.

De obicei, însă, este foarte dificil sau chiar imposibil de a diferenţia fibrinoliza primară de cea secundară în cadrul CID. Pacienţii cu diagnostic cert de fibrinoliză primară nu vor primi heparină și li se va administra plasmă şi, ocazional, inhibitori ai fibrinolizei, cum ar fi EACA.

Totuşi, acidul epsilon-amino-caproic (EACA) nu va fi indicat la bolnavii suspecţi de CID, dacă nu au fost tratati in prealabil cu heparină, deoarece EACA poate produce tromboze masive, letale.

TROMBOZA ŞI TERAPIA ANTITROMBOTICĂ

Mecanismele de apărare a organismului împotriva trombozei

Endoteliul normal previne aderarea şi agregarea trombocitelor la peretele vascular prin secreția de prostaciclina. Mecanismele prin care organismul controleaza procesul de coagulare (facctorii anticoagulanti naturali) au fost menționate la inceputul acestui capitol. Rolul anti-trombinei III este demonstra! de prezența complicaţiilor trombotice in deficienta congenitală a acestui factor.

Sistemul fibrinolitic are, de asemenea, un rol important in apărarea organismului împotriva trombozei. Scăderea activității fibrinolitice a fost constatată la unii pacienţi cu tromboze. Endoteliul vascular are conținut bogat in activatorul plasminogenului.

In modelul experimental de inducere a trombozei intr-un teritoriu vascular, administrarea de acid α-amino-caproic (inhibitor al plasminogenului) accentuează formarea trombusului, iar, in

practică, EACA a fost ocazional asociat cu tromboze extensive, evidenţiindu-se astfel rolul prorector al sistemului fibrinolitic.

Fiziopatologia trombozei

Anomaliile peretelui vascular, alterarea fluxului sanguin şi modificarile in compozitia sangelui sunt principalii factori implicaţi in fiziopatologia trombozei, cunoscut inca din secolul al XIX-lea sub numele de “triada lui Virchoy" (vezi fig. 12.12).

Rolul peretelui vascular

De obicei, tromboza arteriala este declansata de o “leziune a peretelui vascular" (de exemplu: ateroscleroza) de care adera, intr-o prima etapă, trombocitele circulante. Ulterior, prin iniţierea procesului de coagulare se formează trombusul roşu definitiv, In tromboza venoasa, peretele vascular este histologic normal, ceilalti factori menţionaţi având rolul fiziopatologic major.

Anomaliile fluxului sanguin

Iniţial tromboza arterială se produce in conditiile unui flux sanguin rapid. Pe masura ce trombusul creste in dimensiuni obstrueaza, parţial sau total, lumenul vascular. Rolul alternarii fluxului sanguin in patogenia trombozei arteriale este insuficient cunoscut, totuşi turbulenţa şi hipervascozitatea par a fi implicate.

Tromboza venoasă este declanşată în condiţiile unui flux sanguin incetinit staza având rol fiziopatologic important.

Termenul de hipercoagulabilitate este folosit pentru a desemna prezenta in plasma a unor concentrații crescute de agenţi precoagulant sau de factori activi ai coagularii.

Trombozele se produc cu frecventa crescuta in condiții asociate cu niveluri ridicate ale factorilor coagularii, cum ar fi sarcina, consumul de anticonceptionate orale si, in anumite familii, cu concentratii mari ale factorilor V şi VIII. La pacienți cu boli hepatice cronice, administrarea concentratelor de complex pretrombinic poate declanşa tromboze extensive.

Rolul fosfolipidelor este bine precizat. Astfel, creşterea concentrației plasmatice a acizilor graşi liberi, prin administrarea intravenoasă sau indusă de ACTH, este asociată cu tromboze masive. Astfel, acizii graşi saturaţi, cât şi cei nesaturati inițiază agregarea plachetara, secreția factorilor trombocitari şi, probabil, activarea factorilor, XII si XI.

Pacientii cu hiperlipoproteinemie de tip II au risc mare de complicatii trombotice.

Metode utile în diagnosticul trombozei

Incercarea de a descoperi teste paraclinice care să detecteze trombozele acute sau să “anticipeze" declanşarea acestor fenomene nu a dat rezultate incurajatoare.

Studierea turnover-ului fibrinogenului marcat radioactiv şi a produşilor săi de catabolism poate aduce informatii utile. Nivelurile produşilor de degradare ai fibrinei (PDF) pot fi uşor crescute în condiţiile unei tromboze active şi semnificativ ridicate in emboliile pulmonare.

Medicatia antitrombotică

Agenţii antitrombotici

	Heparina	*Derivaţii cumarinici şi inandionici*	*Agenţii trombolitici*	*Antiagreganiele plachetare*
Structura chimică	Micropolizaharidă acidă	Derivaţi de 4-hidroxi-cumarina sau 1,3-inandiona	Enzime proteolitice semipurificate obţinute din produşi bacterieni (streptokinaza) şi urină (urokinaza)	Acid acetilsalicilic, Dipiridamol, Dextran, Sulfinpirazona
Mecanismul de acţiune	Inhibă, după interacţiunea cu antitrombina III (cofactorul heparinei), factorii: IX, X, XI şi trombina	Antivitamina K perturbă sinteza complexului protrombinic (II, VII, IX, X)	Induc fibrinoliza prin activarea endogenă a plasminogenului	Inhibă agregarea plachetelor şi secreţia factorilor trombocitari
Sediul acţiunii antitrombotice	Sângele periferic	Hepatocit	În interiorul sau la suprafaţa trombusului	Trombocitele circulante
Momentul acţiunii antitrombotice	Imediat	După 12—48 ore	Imediat după neutralizarea inhibitorilor plasmatici	Imediat
Calea de administrare	Intravenoasă, subcutanată	Orală	Intravenoasă	Orală
Doze terapeutice	5 000—10 000 u la 4 h i.v. 1 000 u/h în PEV 15 000—20. 000 ui calciparina s.c. la 12 h	Acenocumarol (Trombostop) 12—18 mg în primele 2 zile, apoi 2—6 mg/zi	Streptokinaza: doza de încărcare 250 000 u i.v., apoi 100 000 u/h în PEV timp de 24—72 h. Urokinaza: 4 000 u/kilocorp, apoi 4 000 u/kilocorp/h în PEV	Aspirina: 160 mg/zi sau 325 mg la 2 zile. Dipiridamol: 150—200 mg/zi

	Heparina	*Derivaţii cumarinici şi inandionici*	*Agenţii trombolitici*	*Antiagregantele plachetare*
Controlul de laborator	Timpul de coagulare a sângelui total (Lee-White) sau timpul de coagulare a plasmei recalcifiate (Howell)	Timpul Quick	Timpul de trombină, testul de liză a euglobulinei, nivelul fibrinogenului seric	Agregarea trombocitelor în prezenţa epinefrinei sau colagenului. Nu este necesară monitorizarea de laborator
Interacţiunile medicamentoase	Antagonişti: tetracicline, antihistaminice, digitalice, nicotina, acid ascorbic	Antagonişti: barbiturice, Carbamazepin, Colestiramina, Glutetimid, Griseofulvina, contraceptive orale. Potenţează acţiunea cumarinicelor: salicilaţi, fenilbutazona, Clofibrat, Disulfiram, Cloramfenicol, Chinidina, Neomicina		—
Antidotul	*Protamina*	*Vitamina K*	*EACA, acid tranexamic*	*Absent*
Eficacitate în:				
— trombozele venoase	+	+	+	?
— emboliile pulmonare	+	+	+	?
— trombozele arteriale	?	?	+	?

Capitolul 13

TRANSPLANTUL DE MĂDUVĂ OSOASĂ

Transplantul de măduvă osoasă constituie o metodă nouă de tratament aplicată la un grup din ce in ce mai mare de boli, la care mijloacele terapeutice clasice au fost depăşite. Introducerea acestei forme eroice de tratament in programele terapeutice a prelungit durata de viață a pacienţilor. Rezultatele transplantului medular sunt încă în curs de evaluare.

Prima sugestie că transplantul de măduvă osoasă ar fi posibil apartine lui Leon Jacobson, care in 1949 a demonstra ca protecția splinei (cu un ecran de plumb) la un soarece supus unei

iradieri totale evita efectele letale ale mielosupresiei consecutive iradierii. La scurt timp s-a descoperit că acelaşi efect radioprotector poate fi obţinut la un şoarece iradiat total care primeşte măduvă osoasă de la un şoarece inrudit cu acesta.

În jurul anului 1950, studiile cu markeri citogenetici au arătat ca efectul radioprotector al transplantului medular se datorcază insamantarii măduvei hipoplazice a gazdei cu celulele donatorului, care aparţin tuturor seriilor hematopoietice: eritroida, granulocitara, megacariocitară, Jimfoida, prccum şi sistemului monocit-macrofag.

Implicațiile transplantului au fost evidente, dar tehnica nu a putut fi aplicata decat mai tarziu, odata.cu descoperirea complexului major de histocompatibilitate HLA.

INDICATIILE TRANSPLANTULUI DE MADUVĂ

1.Boli genetice:
-sindroame de imunodeficientă;
-sindromul Wiskott-Aldrich;
-ataxia- telangiectasia;
-talasemia majoră.
2.Anemia aplastică.
3. Boli maligne ale tesutului hematopoietic: leucemi, limfoame nehodgkiniene, boala Hodgkin, mielom multiplu;
-ale altor organe (cancer de sân, tumori cerebrale primitive, cancer pulmonar cu celulă mică etc.) tratate agresiv de citostatice, cu aplazie medulară secundară.
4. Boli metabolice: mucopolizaharidoze, boala Gaucher.

TIPURILE DE TRANSPLANT

Sunt posibile 3 forme de transplant medular:
-heterotransplantul (transplantul allogenic), In care donatorul şi gazda sunt 2 indivizi genetic diferiți, dar identici din punct de vedere al antigenelor de histocompatibilitate;
- autotransplantul (transplantul autolog), când unui individ bolnav i se perfuzează măduva lui proprie, recoltată in perioada de remisiune completa;
- transplantul syngenic, in care donatorul şi gazda sunt 2 indivizi identici din punct de vedere genetic (gemenii univitelini),

SELECTIA DONATORILOR

Pentru transplantul allogenic, donatorii trebuie să fie complet sănătoşi; selecţia lor se face prin testarea histocompatibilităţii.

Genele sistemului de histocompatibilitate sunt localizate pe brațul scurt ai cromozomului 6 şi au o transmitere linkata (in bloc).

Termenul dehaplotip defineşte totalitatea genelor care se succed pe un singur cromozom. Fiecare individ are două haplotipuri mostenite de la ambii parinţi.
Sistemul de histocompatibilitate este subdivizat in clasa I (HLA-A, B, C), clasa II (HLA-DR, DQ si DP) si clasa III (gene pentru anumite componente ale complementului). Antigenele din clasa I sunt prezente pe toate celulele nucleate si pe trombocite. Antigenele din clasa II au o distribuţie mai limitata, fiind prezente pe suprafata limfocitelor B, monocitelor, macrofagelor şi limfocitelor T activate."

Sistemul genelor de histocompatibilitate este polimorf: pentru fiecare locus genetic există alele multiple. In contrast cu acest polimorfism, într-o familie nu por fi întâlnite decât 4 haplotipuri. Astfel, in cazul unui pacient dat, fiecare din rudele sale are o şansă din patru de a fi HLA-identic cu bolnavul.

In majoritatea cazurilor de heterotransplant, donatorii sunt rude apropiate, având un HLA identic cu cel al pacientului. Totuşi, din 1970 s-au raportar din ce in ce mai multe cazuri de donatori voluntari care nu fac parte din familia bolnavului, dar care au un HLA ce corespunde cu cel al pacientului sau difera numai printr-un singur antigen HLA.

PREGĂTIREA PACIENTULUI

Copiii cu deficiente imune congenitale pot accepta transplantul fără, o pregătire prealabilă deosebită.In cazurile de anemie aplastică şi de leucemie în perioada de remisiune completa se indică imunosupresia inaintea efectuarii transplantului medular, pentru a preveni reactia de respingere a grefei.

In anemia aplastică sunt indicate doze mari de ciclofosfamida. Pentru bolnavii cu leucemie acuta, în remisiune, se recomanda o imunosupresie agresivă cu ciclofosfamida, eventual şi iradiere total, in scopul distrugerii celulelor maligne reziduale.

In talasemia majoră și în cancerele cu metastaze medulare se administreaz Busulfan in doză mare unică (64 mg), după care, in a 8-a zi, se aplică transplantul.

ASPIRAREA MĂDUVEI ŞI INFUZIA

Locurile cele mai accesibile pentru recoltarea măduvei osoase sunt crestele iliace, pacientul sau donatorul fiind sub anestezie generala. Aspiratul medular (500-800n ml) este amestecat cu heparină şi un mediu de cultură. In continuare, maduva este trecuta prin filtre speciale pentru a indeparta eventualele particule. In cazul autotransplantului, produsul este supus centrifugarii, prin care se realizeaza separarea unui concentrat medular de plasma. Plasma este reperfuzata in aceeaşi zi pacientului.

Maduva osoasă este pastrata la temperaturi cuprinse intre -80°C si -140°C (crioprezervare). Pentru reinfuzare, incalzirea se face la temperatura corpului.

Măduva allogenică sau autologa este infuzată intravenos bolnavului, in momentul de aplazie. Celulele suşe trec prin plămâni şi apoi ajung În măduva osoasă, unde cresc şi reconstituie celularitate de tip normal.

In continuare, pacientul ente urmarit 14- 28 de zile, pwrioada in care parametrii hematologici revin treptat la normal.

Supravegherea si spitalizarea pacienţilor se face in incaperi sterile, cu dotate corespunzatoare.

Dacă numărul de trombocite este scăzut sub 20 000/mm^3 se perfuzeaza masa trombocitara, cu riscul apariţiei izoimunizări. Masa eritrocitara este indicată când hematocritul este in jurul valorii de 25% (Hb=5g%). Masa leucocitara se recomanda numai dacă pacientul are o infecție refractară la tratament şi numărul de leucocite este constant în jurul valorii de 200/mm^3.

Toate produsele transfuzate, alături de transplantul de măduvă, trebuie iradiate cu 1,5 Gy pentru a inactiva limfocitele care ar putea cauza reacţia grefei contra gazdei.

Truse de farmacie proprie unei astfel de unități de transplant trebuie să cuprindă obligatoriu antibiotice (Gentamicină, Tobramicină, Amikacina), precum şi antimicotice de tipul Ketoconazolului. Dacă febra persistă, iar toate culturile sunt negative, vom prescrie co-trimoxazol şi Amfotericina.

Infuzia măduvei şi a substanțelor nutritive se face pe un cateter special de tip Hickman, care poate fi pastrat timp de trei luni.

După 21-28 de zile, se înregistrează o crestere a numărului elementelor figurate din sângele periferic: leucocite 1 000/mm^3 şi trombocite 80 000/mm^3. De asemenea, apar reticulocitele. Aceste constante dovedesc eficienta transportului, care a insămânţat maduva aplazică a pacientului.

REZULTATELE CLINICE ALE TRANSPLANTULUI DE MĂDUVA

- In talasemia majoră s-au obţinut rezultate majore în 80% din cazuri,

- In anemia aplastică rezultatele depind de momentul aplicării transplantului.

Cand anemia a fost diagnosticată într-un stadiu precoce s-au obtinut perioade mari de supravietuire la 80% din pacienti. Pe de altă parte, când transplantul medular se efectuează într-un stadiu avansat de boală, la un pacient politransfuzat scade procentul rezultatelor favorabile la 40%.

- In leucemia acută, aplicarea transplantului în perioada de recădere a bolii asigura o supravietuire de numai 10%. In perioada de remisiune clinică şi hematologică a leucemiei acute limfoblastice, efectuarea transplantului medular poate determina o vindecare aparentă la 25% până la 50% din pacienți. Pentru leucemia acută mieloblastică, prognosticul este mai puţin favorabil.

- In leucemia granulocitară cronică, transplantul efectuat in faza cronică determină o supraviețuire de 50-80%, cu disparitia cromozomului Philadelphia. Pentru leucemia surprinsă în puseu blastic, rata de supravieţuire după transplant este mult mai mică (10-20%).

- Succesul heterotransplantului este invers proportional cu varsta pacientului. De exemplu, bolnavii care au primit transplantul in prima remisiune a leucemiei acute au o şansă de supraviețuire de 75%, dacă au vârsta sub 20 de ani, Peste vârsta de 50 de ani, procentul se reduce la 40-50.

Autotransplanta a fost iutrodus de aproximativ 20 de ani si se efectuează numai la pacientii a căror maduva osoasa nu este infiltrata cu celule maligne.

Acest tip de transplant are valoare numai în protejarea pacientului de mielosupresia indusă de chimioterapia “supraletala”. Dacă tratamentul implică o toxicitate letala pentru un alt organ, autografa va fi lipsita de beneficiu. Autotransplantul constituie un subiect de interes, cu unele rezultate incurajatoare.

COMPLICATIILE TRANSPLANTULUI DE MĂDUVĂ OSOASA

-rejecția transplantului;
- reacția grefă contra gazdă, cu cele două forme: acută şi cronică;
-recăderea, în special în primele trei luni de la transplant. (exemplu: pneumonia interstitială cu citomegalovirus);
-complicații diverse: cistita hemoragică, cardiomiopatie, boala veno-ocluzivă hepatică, leucoencefalopatie, cataractă, sterilitate.

Rejecția transplantului se produce după un interval de câteva zile sau săptămâni de la aplicarea grefei. Se manifestă prin scăderea brutală a elementelor figurate din sângele periferic şi prin absenţa celulelor mieloide pë frontul de măduvă osoasă.

Rejectia are la bază un mecanism imunologic. De obicei, se datorează unei sensibilizări la antigenele non-HLA conținute în produsele de sânge transfuzate.

Apare frecvent în anemia aplastică la pacienţii politransfuzați. De asemenea un tratament imunosupresor prealabil inadecvat poate favoriza respingerea grefei.

Reacția grefă contra gazdă- forma acută- reprezintă una din complicatiile majore, mediate imunologic, ale transplantului medular, care apare la jumătate din pacienti. Are la bază o reactie imunologică dezvoltată de limfocitele T din transplant împotriva țesuturilor gazdei, cu afectarea pielii, tractului gastro-intestinal şi ficatului. Primul semn clinic este rash-ul cutanat urmat de diaree, dureri abdominale şi, în final, de ileus. Afectarea hepatică se caracterizează prin cresterea nivelului seric al bilirubinei, transaminazelor şi fosfatazei alcaline. De asemenea, este prezent un deficit imunologic sever, care explică decesul acestor bolnavi printr-o cauză infecţioasă. Pentru prevenirea acestei complicaţii, se indică un tratament imunosupresor cu Methotrexat, corticosteroizi sau Ciclosporină, începând din prima zi după transplant. Tot în scop profilactic, se elimină din inoculul medular celulele T considerate a fi responsabile de reacția grefă contra gazdă. Când fenomenul este constituit, se încearcă administrarea de globuline antitimocite, doze mari de metilprednisolon, Ciclosporină şi/sau anticorpi monoclonali împotriva celulelor T cu răspuns favorabil în 2/3 din cazuri.

Reacția grefa contra gazdă- forma cronică -apare la 1/4 din pacientii care au supravietuit transplantului medular o perioadă mai mare de 100 de zile. Se manifestă prin: modificări cutanate, keratoconjunctivită, stenoze esofagiene, afectarea intestinului subțire și a colonului, insuficientă pulmonară, care pot mima o boală de colagen. Se asociază, de asemenea, cu infecţii bacteriene recurente.

CONCLUZIE

Transplantul medular, deşi este o formă costisitoare de tratament, se află In curs de extindere, datorită unei rate mai mari de supraviețuire a pacientilor, în comparatie cu chimioterapia.

CAPITOLUL 14
SPLINA

STRUCTURA ŞI FUNCŢIILE SPLINEI

Splina constituie un organ de depozit atât pentru limfocite T Si B cât si pentru celulele sistemului monocit-macrofag.

Astăzi se consideră că splina îndeplineşte patru mari funcții:

1) Funcția imuna, prin recunoaşterea anumitor antigene și microorganisme şi epurarea lor din circuitul sanguin. Participă la răspunsul imun, umoral şi celular prin producția de anticorpi și maturarea funcțională a limfocitelor T.

2) Rol în sechestrarea, remanierea şi distrugerea celulelor sanguine normale şi patologice.

3) Rol in reglarea fluxului sanguin portal prin sistemul vascular propriu.

4) Rol in hematopoieza. În timpul vieții fetale, splina joacă un rol esenţial in formarea elementelor figurate sanguine. După naştere, în splină raman celule suse pluripotențiale, deşi funcţia hematopoietică este preluată de măduva osoasă. La adult, în condițiile in care măduva osoasă este dislocată sau suprastimulata, in splină se inițiază un proces de hematopoieză extramedulara.

Aceste funcții au ca suport structura particulară a splinei, reprezentată de pulpa rosie şi pulpa albă. Pulpa rosie este formată din sinusurile splenice și cordoanele Billroth, pe care se sprijină celulele sistemului monocit-macrofag. Pulpa albă este alcatuita din populația de limfocite dispusă în două zone: manşoanele periarteriolare, formate din limfocite T, şi foliculii limfoizi compuşi, în principal, din limfocite B.

Splina are o capsulă care menţine integritatea anatomică a acestui organ, Ea este alcătuită dintr-un tesut conjunctiv fibros, din care se desprind trabecule ce pătrund în interiorul organului şi constituie un suport pentru vase şi nervi.

Anatomia splinei este mai bine înţeleasă dacă se urmăreşte fluxul sanguin (vezi fig. 14.1). Hilul splinei este ocupat de artera și vena splenică. Sângele patrunde in splină prin artera care se divide în ramuri trabeculare, ce străbat din capsulă. Pe măsură ce inaintează, calibrul acestor artere se micşorează progresiv şi se împart in arteriole centrale. Fiecare arteriolă centrală este înconjurată de un manşon format din limfocite T. Din aceste arteriole se desprind ramuri foliculare, destinate foliculilor limfoizi din pulpa alba.

După ce au părăsit pulpa alb, arteriolele centrale se continua cu arteriolele penicilare, care alimentează cordoanele şi sinusurile splenice cu sânge bogat in elemente figurate. Deşi există conexiuni directe între arterele penicilare terminale şi sinusurile splenice, realizând o circulatie ‘închisa" de la sistemul arterial la cel venos, o cantitate importantă din sângele terminal splenic pătrunde direct in cordoanele Billroth, traversând acest sistem de filtrare, inainte de a pătrunde in circuitul venos.

Ultrastructura cordoanelor şi sinusurilor splenice din pulpa roşie este adaptată pentru funcţia de remaniere și distrugere a celulelor sanguine. Cordoanele splenice constituie o reţea de ţesut conjunctiv reticular, pe care se sprijină celulele sistemului monocit-macrofag, având rolul unei „site". Intre ele, se delimitează sinusurile splenice. Sinusul splenic are o structură unică, cu membrana bazală străbătută de mici fenestraţii cu un diametru de trei microni.

Sângele circulă liber in cordoanele splenice (circulaţia “deschisă” a splinei), iar hematiile, leucocitele şi trombocitele sunt supuse unui control functional, efectuat de celulele macrofage din vecinătate. Acestea vor refine şi fagocita hematiile “imbatranite" sau cu defect de membrana. De asemenea, vor extrage din eritrocite resturile nucleare, corpii Jolly sau corpii Heinz (hemoglobina oxigenată precipitată intraeritrocitar). Prin fenestratie splenice se pot strecura numai hematiile care işi păstrează elasticitatea membranei. Sferocitele, având o formă rigidă, nu vor putea străbate fantele sinusului. Tot macrofagele splenice vor recunoaşte și fagocita trombocitele pe suprafața cărora se găsesc complexe imune.

In concluzie, sinusurile splenice constituie un filtru microvascular foarte eficient, care permite să ajungă în circulația generală numai hematii funcţionale, neutrofile şi trombocite normale.

La indeplinirea funcției imune a splinei participă atât macrofagele, cât și limfocitele. Macrofagele vor recunoaşte paraziții din hematii, virusurile şi bacteriile din sânge şi vor prelucra materialul antigenic, transmițând informația limfocitului T.

Aceste limfocite T cu CD_4 (helper) sau CD_8 (supresoare) vor iniția limfocitele B din foliculii limfoizi. La acest nivel, plasmocite vor fabrica imunoglobuline care se vor cupla cu antigenul, formand complexe imune. Complexele imune vor fi reţinute de macrofage, dar o parte din imunoglobuline vor ajunge, prin fenestraţii, in sinusurile splenice, apoi in vena splenica şi de aici in circulația generală, neutralizând antigenul. In vena postsinusoidala, celulele endoteliale pot realiza încă un control imun, avand pe suprafaţa lor receptori specifici (imunoglobuline de suprafață), care vor reține antigenul ce a trecut prin filtrul de control, reprezentat de macrofage şi limfocite.

MECANISMELE SPLENOMEGALIEI

Multe din mecanismele de mărire a splinei constituie, de fapt, o exagerare a functiilor normale ale acesteia (vezi tabelul XIV-1)

Tabelul XIV-1

Cauze de splenomegalie

A) Splenomegalie prin hiperplazia sistemului imun in caz de infecţii şi inflamaţii: septicemie, febră tifoidă, mononucleoza infectioasă, endocardită bacteriană subacuta, tuberculoza miliara, malarie, leishmanioza, abces splenic, sarcoidoză, sindrom Felty.
B) Splenomegalie prin hiperplazia sistemului monocit-macrofag: anemii hemolitice, trombocitopentii imune, LES.
C) Splenomegalie congestivă, prin alterarea fluxului sanguin: ciroză hepatică, tromboza, stenoză, transformarea cavernoasă sau compresiunea extrinseca a venei porte.
D) Splenomegalie infiltrativă:

-afecțiuni benigne: boala Gaucher, boala Niemann-Pick, amiloidoza;
-afecţiuni maligne: leucemii, limfoame, boala Hodgkin, tumori primitive ale splinei (hemangioame, sarcoame, hamartoame).

E) Splenomegalie prin proliferarea celulelor suşe hematopoietice (hematopoieza extramedulara) mielofibroza cu metaplazie mieloida, anemii hemolitice congenitale, anemie feriprivă.

DIAGNOSTICUL SPLENOMEGALIEI

Anamneza atentă și minuțioasă poate aduce informatii valoroase pentru diagnostic. Astfel, o durere vie in hipocondrul stâng cu iradiere în umăr poate sugera un infarct splenic. De asemenea, cercetarea antecedentelor heredocolaterale constituie un element important in depistarea unei anemii hemolitice congenitale.

Examenul fizic trebuie să fie complet şi corect efectuat. Pentru examenul splinei se folosesc palparea şi percutia. La un individ normal, splina se percutează numai la nivelul spațiilor intercostale IX-XI şi este inaccesibilă paipării. Palparea incepe in cadranul inferior stâng, iar aprecierea gradului de mărire se face in raport cu linia orizontală trasată la nivelul ombilicului. Clinic, se descriu trei grade de splenomegalie asociate cu diverse afecţiuni (vezi tabelul XIV-2).

Tabelul XIV-2

Splenomegalie gr. I (uşoară)

Insuficienţă cardiacă congestivă
Malaria acută
Febra tifoida
Endocardita bacteriana
Boala lupică
Artrita reumatoida
Talasemia minoră

Splenomegalie gr. II (moderata)

Ciroza hepatica cu hipertensiune portala
Anemie hemolitică imuna
Limfoame ne-hodgkiniene
Leucemia Limfatica cronică
Amiloidoza
Abcese splenice
Infarcte splenice

Splenomegalie gr. II (giganta)

Leucemie granulocitara cronică
Mielofibroza cu metaplazie mieloida
Leucemia acută cu celula “păroasa"
Boala Gaucher
Boala Niemann-Pick
Talasemia majoră (Cooley)
Malaria cronica
Leishmanioza
Sifilis congenital
Obstructia venei porte

Dintre investigatiile paraclinice utile în diagnosticul splenomegaliei menționăm: ecografia subdiafragmatică cu aprecierea stazei in vena splenică, scintigrafia, tomografia computerizată. Folosirea eritrocitelor marcate cu crom radioactiv poate furniza informații cu privire la rolul splinei într-o anemie hemolitică, în comparatie cu alte organe reticulo-endoteliale, cum ar fi ficatul. În acest caz, datele obținute permit aprecierea oportunității splenectomiei. Angiografia selectivă splenică poate constitui o metodă de evaluare a splenomegaliei, preoperator.

Pentru stabilirea etiologici splenomegaliei, investigațiile de laborator (hemoleucograma, frotiu de sânge periferic, probe hepatice, teste de inflamație) sunt obligatorii. Se indică, eventual, şi examenul maduvei osoase.

HIPERSPLENISM

Termenul de hipersplenism a fost introdus in 1907 de Chauffard şi este folosit pentru a desemna situatiile in care splina indepărtează din circulație un număr mare de eritrocite, granulocite sau trombocite. Se produce o sechestrare a acestor linii celulare, fie printr-o modificare hemodinamică intrasplenică, fie printr-un mecanism imun prin intermediul anticorpilor antieritrocitari, antigranulocitari sau antitrombocitari. Elementele sanguine lezate prin mecanismul imun vor fi fagocitate de macrofagele splenice.

Criteriile de diagnostic ale hipersplenismului sunt:

1) Anemie, leucopenie, trombocitopenie sau combinația acestora: pancitopenie.
2) Măduva osoasă hiperplazică, cu celule de aspect normal.
3) Splenomegalie.
4) Corectarea anomaliilor hematologice menționate, în urma splenectomiei..

HIPOSPLENISM

Termenul de hiposplenism sau asplenie este folosit pentru a indica diminuarea sau absența funcțiilor splinei. Apare în următoarele situaţii clinice:

-postsplenectomie;
-absenţa congenitală a splinei;
-anemia hemolitică congenitală cu hemoglobina S, când sunt prezente numeroase infarcte splenice (autosplenectomie").

Pacientii cu splenectomie sunt sensibili la infectii bacteriene cauzate, în special, de Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Escherichia coli, Haemophilus influenzae. Aceste infecții se explică prin lipsa de filtrare a bacteriilor învelite cu anticorpi, cât şi prin scaderea producției de anticorpi de tip IgG sau IgM (opsonine).Dacă pacientul este vaccinat preoperator, se reduce riscul infecţiilor severe.

In caz de hiposplenism, pe frotiul de sânge periferic se descriu hematii in tintă, corpi Jolly şi inele Cabot, rari normoblaşti, trombocite tinere.

INDICAȚIILE SPLENECTOMIEI

1) Rupturi traumatice ale splinei.
2) Anemii hemolitice congenitale: sferocitoză ereditară cu crize repetate de hemoliză, talasemia majoră, deficitul de piruvatkinaza.
3) Anemia hemolitică aùtoimună cu anticorpi la cald, rezistentă la tratament
4) Purpura trombocitopenică idiopatică rezistentă la tratament.
5) Abcese şi chisturi splenice.
6) Sindrom Felty cu leucopenie severă.

7) Boala Gaucher cu splenomegalie importantă.
8) Leucemia acută cu celulă păroasă“ (Hairy-cell leukemia).
9) Limfoame cu determinare splenică şi tablou de hipersplenism.
10) Ciroza hepatică cu hipersplenism.
11) Leucemia limfatică cronică cu splenomegalie gigantă, anemie hemolitică și trombocitopenie imună.
12) Laparotomia urmată de splenectomie constituie o metodă de elecție pentru diagnosticul precoce al bolii Hodgkin (stadiile I. II).
13) Indicatia de splenectomie trebuie prudent evaluată în mielofibroza cu metaplazie mieloidă agnogenică şi în leucemia granulocitară cronică.

CAPITOLUL 15
TRANSFUZIA DE SANGE

Preparatele de sange si indicatiile transfuziei

Transfuzia de sânge este asociata cu o morbiditate considerabila, pe prin fiind situate reacţiile imunologice, declanşate de incompatibilitatea in diverse sisteme de grup sanguin.

Termenul de grup “sanguin" se referă la un sistem bine definit de antigene eritrocitare, controlat de un locus cromozomial cu un număr variabil de alele, cum sunt A, B şi 0, în sistemul ABO. Astăzi sunt recunoscute peste 20 de sisteme de grup sanguin, de importanţă majoră în practica medicala fiind sistemele AB0 şi Rh.

Preparatele de sânge care pot fi administrate, sub un control riguros biologic si al compatibilităţii sunt reprezentate de:
-sânge integral;
- masă eritrocitara:
-masă trombocitara;
-concentrat leucocitar;
-componente plasmatice: plasmă proaspătă, crioprecipitat, concentrat de factor VIII, concentrat de complex protrombinic, concentrat de fibrinogen, preparat de imunoglobuline.

Indicația principală pentru transfuzia de sânge integral o constituie hemoragiile acute consecutive traumatismelor, intervenţiilor chirurgicale majore, hemoragiei digestive superioare.

Masa eritrocitara. obţinută prin sedimentarea sau centrifugarea sangelui integral, se recomanda in special la pacienţii cu anemie cronică severa, care au volum plasmatic crescut. Administrarea sangelui integral la aceşti pacienţi poate determina supraîncărcarea volemica, cu precipitare insuficienței cardiace.

Pe langă evitarea încărcării circulaţiei, masa eritrocitara prefera protecție impotriva aportului excesiv de electroliti (sodiu, potasiu), citrat, amoniac, anticorpi (anti-A), care nu poate fi evital in cazul administrării de sange integral

Principalele tipuri de anemii care au indicatia majoră de transfuzie sunt:

- anemia aplastica congenitala sau dobándită;
- anemiile hemolitice congenitale: talasemie majoră, siclemie, deficit de glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza. In anemiile hemolitice autoimune trebuie evitate transfuziile, deoarece pacientii dezvoltă rapid anticorpi impotriva antigenelor eritrocitare şi efectul acestora este anulat;
- anemii severe prin deficientă de vitamina B12, folati sau fier, când valorile scăzute de hemoglobină şi ale hematocritului afectează funcțiile vitale ale organismului.

Masa trombocitară este preparată prin centrifugarea plasmei bogate in trombocite şi se indică la pacienţii cu sângerări importante datorate trombocitopeniei (sub 20 000/mm^3) sau unui defect calitativ al plachetelor. De asemenea, poate fi administrată preoperator, in scop profilactic, când numărul de trombocite este mai mic de 60 000/mm'. Nu trebuie administrat masa trombocitara la bolnavii cu purpură trombocitopenică idiopatică (PT1), datorită anticorpilor antiplachetari şi nici in coagulopatiile de consum inaintea tratării cauzei primare.

O unitate de concentrat trombocitar creşte numărul de trombocite cu 10 000/mm^3.

Datorită riscului mare de reacții imunologice, indicatiile masei trombocitare trebuie strict limitate la urgentele hemoragice majore.

Concentratele leucocitare au o utilizare restrânsă, se indică la pacientii cu neutropenie severă şi infectii bacteriene refractare la antibioticele adecvate. Se transfuzează zilnic 10 30 x 10^9 neutrofile, obtinute de la donatori normali prin leucofereza. Eficacitatea acestei forme de tratament este limita de durata scurta de viaţă a neutrofilelor (4-7 ore) in torentul circulator.

COMPLICATIILE TRANSFUZIEI DE SÂNGE

Complicațiile transfuziei de sânge pot fi clasificate astfel:

1) Complicaţii imunologice

-reacții imunologice împotriva eritrocitelor (hemoliză intravasculară sau extravasculara), trombocitelor, leucocitelor, imunoglobulinelor (IgA) sau altor antigene plasmatice.

2) Complicații non-imune

-supraincărcarea volemică;
-contaminarea bacteriana;
-transmiterea unor boli: hepatită cu virus B sau C, infecții cu citomegalovirus, SIDA, sifilis, malarie, toxoplasmoză, bruceloză;
- hemocromatoza secundara;
-toxicitatea citratului.

COMPLICATII IMUNOLOGICE

Reactii hemolitice datorate incompatibilităţii de grup sanguin

Simptomele datorate unei transfuzii sanguine incompatibile depind de tipul intravascular sau extravascular al hemolizei. Distrugerea intravasculară brutala a hematiilor transfuzate, insotita de hemoglobinemie şi hemoglobinurie este datorata, de obicei, unei incompatibilitati in sistemul ABO, cu participarea complementului.

La scurt timp după administrarea transfuziei, pacientul prezintă frison, dureri lombare şi toracice, eritem facial, urmate de febra inaltă.

In apariția acestei simptomatologii sunt implicate fragmentele C_{3a} si C_{5a} (anafilatoxine), rezultate din activarea cascadei complementului, consecutiva formării de complexe imune intre hematia cu grup A și anticorpi anti-A. Dacă reacția este severă, se produce colaps circulator şi, uneori, coagulare intravasculara diseminata, datorită eliberarii tromboplastinei tisulare şi a activatorului de plasminogen din eritrocitele lizate. Un procent de 10 din pacientii care supraviețuiesc momentului inițial dezvolta oligurie sau anurie, printr-un mecanism insuficient cunoscut. Se presupune că hemoglobinuria masiva exercită un efect toxic pe celulele tubulare renale. Apariţia acestei complicaţii impune administrarea de urgenţă a Furosemidului sau Manitolului, pentru stimularea diurezei.

Când transfuzia este insotita de hemoliza extravasculara, simptomatologia este mai atenuata, manifestata doar prin frison si febră aparute după una sau mai multe ore. Cauza ca mai frecventa de distrugere extravasculara a hematiilor transfuzate este legata de prezenţa anticorpilor anti-D, datorită unei incompatibilităţi in sistemul Rh. In aceste cazuri, insuficienta renală constituie o exceptie.

Un alt tip de incompatibilitate, numit reacţie hemolitică posttransfuzională tardivă, apare după un interval de 7 zile, la pacienții imunizati in antecedente prin transfuzie sau sarcină. In serul acestor pacienti cu imunizări anterioare, titrul anticorpilor este foarte redus şi nu poate fi depistat prin testele obişnuite. Când li se administrează o nouă transfuzie, titrul anticorpilor antitrombocitari

creşte rapid, cu constituirea tabloului de hemoliză în decurs de o săptămână. Astfel, pacienţii vor prezenta anemie, febră, icter și, uneori, hemoglobinurie.

Alte reacţii imunologice

In absenta distructiei eritrocitelor, reacţiile febrile posttransfuzionale se mai pot datora prezentei anticorpilor antileucocitari, antitrombocitari sau anti-HLA.

Menţionăm, de asemenea, un caz rar de reactie imunologică care apare printr-un mecanism de hipersensibilitate imediată (tip I), datorită unor anticorpi anti-IgA aflati în plasma pacienţilor transfuzați, care nu au acest tip de imunoglobulină şi au fost sensibilizați în prealabil. Manifestirile clinice includ: urticarie, eritem, rash maculo-papular, edeme periorbitale şi, foarte rar, hipotensiune, bronhospasm, edem glotic. Tratamentul constă în administrarea de antihistaminice, iar pentru reactiile severe, adrenalina şi hemisuccinat de hidrocortizon.
Cauza acestui fenomen este neprecizată, dar se presupune că ar fi implicate componentele C_{3a} şi C_{5a} precum şi unele leucotriene.

COMPLICATII NON-IMUNE

Contaminarca bacteriană

Transfuzia de sânge infectat este foarte rară, dar atunci când apare are o letalitate mare.

La recoltare există posibilitatea infectării cu germeni care contaminează tegumentele donatorului (exemplu: stafilococi), însă conservarea imediată a sângelui la 4°C impiedică creşterea acestor microorganisme,

Ocazional, unii germeni gram-negativi pot contamina sângele de la donator, cu dezvoltare lentă la 4°C. In 2-3 săptămâni, prin creştere şi multiplicare, aceşti agenti patogeni pot determina reacţii letale la pacienţii transfuzați. Tabloul clinic are aspectul unui şoc endotoxic cu febră inaltă, colaps circulator şi, uneori, coagulare intravasculară diseminată.

Supraincarcarea volemică

Această complicație apare cu predilecție la persoanele In varstă, cu anemie severă, cărora li se administreaza rapid o cantitate mare de sânge. Primele simptome si semne sunt reprezentate de dispnee, tuse seaca, jugulare turgescente, raluri subcrepitante în bazele plămânilor. In acest moment, transfuzia trebuie oprită şi, la nevoie, se practică flebotomia. Daca se continuă administrarea de sange integral, simptomatologia se agravează, până la constituirea tabloului de edem pulmonar acut.

Pentru profilaxia acestei complicații, in cazurile de anemie severă.se administrezi numai 250 ml de masă eritrocitară şi se reduce rata transfuziei la 1 ml/kilocorp/oră. Dacă pacientul are anemie moderată şi funcţie cardiacă normala, poate fi transfuzat, fara nici un risc, 1 litru de sânge în interval de 5 ore (1 picătură/secundă).

Toxicitatea citratului

Sângele recoltat de la donatori este amestecat cu o solutie de citrat-fosfat dextroză+adenină (CPD adenina), pentru a se obţine o conservare adecvată.

Uneori, prin administrarea rapid a unor cantităţi mari de sange conservat se manifestă efectul toxic al citratului, cu un potential ridicat. Acest compus fixeaza calciul ionic din plasmă, cu apariţia spasmelor musculare şi prelungirea intervalului QT pe electrocardiogramă. Daca se administrează o cantitate de sânge, mai mare de 2 l la fiecare 20 de minute, se adaugă obligatoriu 1 g de calciu gluconic pentru fiecare litru transfuzat.

Potasiul care iese din eritrocite, în cursul stocării sângelui poate determina efecte severe numai în prezența unei cantităţi excesive de citrat.

Hemocromatoza

In organism, depozite crescute de fier pot fi întâlnite la 2 categorii de pacienţi:
1) care absorb cantități crescute de fier o perioadă indelungată de timp;
2) care primesc regulat, de mai mulți ani, transfuzii de sânge (pacienţi cu B- talasemie majoră, anemie aplastică şi aplazie pură a seriei eritrocitare).

O absorbție intestinală a fierului crescută, manifestată de la naştere, este caructeristică pentru afecţiunea denumită hemocromatoză idiopatică. Este o boală cu transmitere autosomal-recesivă, gena implicată fiind situată pe cromozomul 6.

S-a constatal o asociere a hemocromatozei idiopatice cu următoarele antigene: HLA- A_3, HLA-B_{14} si HLA-B_7. Pacienții respectivi dezvoltă o simptomatologie tipică in jurul vârstei de 40 de ani. De asemenea, absorbția fierului este crescută la pacienţii cu hiperplazie eritroida marcată, ca urmare a unei hemolize sau a unei eritropoeze ineficiente.

In a 2-a categorie sunt incluşi pacienţii politransfuzati, care prezinta o hemocromatoza secundară.

Cand depozitele de fier sunt excesiv crescute, vor fi afectate progresiv inima, ficatul și organele endocrine. Manifestarile clinico-patologice includ: pigmentarea cu aspect bronzat a tegumentelor, disfuncţie cardiaca, ciroza, diabet, atrofie testiculară și artropatie.

Cel mai important test screening pentru diagnosticul hemocromatozei este nivelul seric al feritinei, valoarea sa este corelata direct proportional cu depozitele din organism (poate atinge 10 000 pg/l).

Deoarece creşterea feritinei serice mai poate fi întâlnită şi în alte condiţii clinice, cum ar fi: infectiile, neoplaziile şi afectiunile hepatice, diagnosticul trebuie confirmat prin biopsie hepatică, care permite atât estimarea cantitativă a fierului depozitat, cât şi aprecierea extinderii leziunilor celulare.

Hemocromatoza idiopatică este tratată prin flebotomii repetate, care influenţează favorabil pigmentarea cutanată, toleranta la glucide, modificările hepatice, nu însă şi manifestările endocrine (insuficienţa gonadică).

In hemocromatoza secundară, la politransfuzati, se indică un chelator de fier -Desferalu-l în injecții intramusculare profunde, cu monitorizarea atentă a excretiei urinare a fierului. Se mai poate administra subcutanat, cu o seringă automata, in interval de 8-10 ore. Acidul ascorbic creşte excreţia urinară a fierului la pacienţii care primesc o medicație chelatoare, dar trebuie administrat cu prudenţă, datorită efectului toxic exercitat pe miocard.